

**UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID**  
**FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS**  
**Departamento de Zoología y Antropología Física**



**TESIS DOCTORAL**

**Tesis inédita de Universidad Complutense de Madrid,  
Facultad de CC. Biológicas, Departamento de Zoología y  
Antropología Física , leída en 2004**

MEMORIA PARA OPTAR AL GRADO DE DOCTOR  
PRESENTADA POR

**Silvia Jiménez Bravo**

**Madrid, 2015**



UNIVERSIDAD COMPLUTENSE  
5320948403

T 594  
JIM  
sio

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID  
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS  
DEPARTAMENTO DE ZOOLOGÍA Y ANTROPOLOGÍA FÍSICA



BIOLOGÍA REPRODUCTORA, DESARROLLO LARVARIO Y  
DINÁMICA POBLACIONAL DE *CORBICULA FLUMINEA* (MÜLLER,  
1774) (BIVALVIA: CORBICULIDAE) EN EL RÍO MIÑO  
(PONTEVEDRA, ESPAÑA)

TESIS DOCTORAL



SILVIA JIMÉNEZ BRAVO

R 38552

MADRID, JUNIO 2004

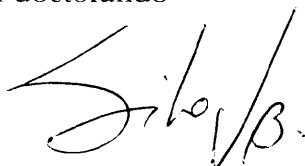


UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID  
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS  
DEPARTAMENTO DE ZOOLOGÍA  
Y ANTROPOLOGÍA FÍSICA

BIOLOGÍA REPRODUCTORA, DESARROLLO LARVARIO Y DINÁMICA POBLACIONAL  
DE *CORBICULA FLUMINEA* (MÜLLER, 1774) (BIVALVIA: CORBICULIDAE) EN EL  
RÍO MIÑO (PONTEVEDRA, ESPAÑA)

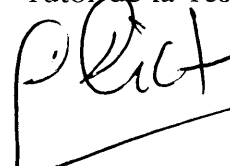
Memoria presentada por Silvia Jiménez Bravo para optar al grado de Doctor en  
Ciencias Biológicas por la Universidad Complutense de Madrid

El doctorando



**Fdo. Silvia Jiménez Bravo**

Vº Bº Tutor de la Tesis



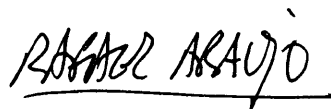
**Fdo. Dr. Darío Díaz Cosín**  
Universidad Complutense de Madrid

Vº Bº Director de la Tesis



**Fdo. Dra. M<sup>a</sup> Ángeles Ramos Sánchez**  
Museo Nacional de Ciencias Naturales,  
CSIC, Madrid

Vº Bº Director de la Tesis



**Fdo. Dr. Rafael Araujo Armero**  
Museo Nacional de Ciencias Naturales  
CSIC, Madrid

MADRID, JUNIO 2004



*A mi familia y a Bea*



*"Pocas cosas hay tan reconfortantes que lo soñado  
imposible se convierta en una posible realidad"*



## ÍNDICE

<b>Agradecimientos</b>	<b>11</b>
<b>INTRODUCCIÓN</b>	<b>13</b>
ANTECEDENTES	16
Taxonomía	16
Expansión de <i>Corbicula</i> spp por el mundo	17
Norteamérica	17
Suramérica y Centroamérica	18
Europa	19
Variabilidad genética en <i>Corbicula fluminea</i>	20
Reproducción	22
Desarrollo larvario	23
Crecimiento y dinámica poblacional	23
Adaptaciones fisiológicas	24
Problemas, utilidad potencial y control de los bivalvos invasores	24
<b>OBJETIVOS</b>	<b>27</b>
<b>MATERIAL Y MÉTODOS</b>	<b>31</b>
Área de estudio	33
Técnica de muestreo y preparación de las muestras	33
Parámetros físico-químicos	35
Registro de medidas	35
Tratamiento estadístico	36
Anatomía	36
Disecciones	36
Histología	37
Ciclo sexual	37
Histología	37
Fijación y conservación	37
Protocolo de histología	38
Frotis de folículos masculinos	39
Técnica del frotis	39
Fases larvarias	41
Microscopía electrónica de barrido (M.E.B.)	41
Selección de los ejemplares	41
Fijación y deshidratación	41
Secado por punto crítico	42
Montaje y metalización	42
Observación	42
Microscopía óptica: Histología	42
Conchas juveniles	42
Microscopía electrónica de barrido	42
Dinámica poblacional	43
Morfometría	43
Histogramas de crecimiento y cohortes generacionales	43
Homogeneización de los datos	43
Abreviaturas	46
<b>RESULTADOS</b>	<b>47</b>
1-MORFOLOGÍA DE LA CONCHA	49
2-ANATOMÍA GENERAL DE LAS PARTES BLANDAS	50
El manto	50
Los músculos	50

Los sifones	50
Las branquias	51
Los órganos del pericardio	53
Los órganos de la masa visceral	53
El sistema digestivo	53
El sistema nervioso	53
El sistema genital	55
Anatomía microscópica de la gónada	56
Estructura folicular	56
Vías de evacuación	59
Ganglio folicular / Ganglio neuroma	60
3-BIOLOGÍA REPRODUCTORA	62
El sistema genital	62
Desarrollo de la gónada	62
Diferenciación sexual	62
Maduración de la gónada	62
Gametogénesis. Caracterización de los tipos celulares de la serie germinal	64
Serie Femenina	64
Serie Masculina	64
Ciclo sexual	66
Evolución gonadal. Estados gonadales	66
Línea Femenina	66
Línea Masculina	68
Observaciones mensuales de la evolución y desarrollo gonadal. Análisis histológicos	70
Frotis de folículos gonadales	79
Resumen general: maduración, evolución anual de la gónada y ciclo sexual	80
Línea germinal femenina	81
Línea germinal masculina	81
Proporciones foliculares	82
Fecundación	84
Gravidez	87
Parámetros físico-químicos: influencia sobre la reproducción de <i>C. fluminea</i>	94
Análisis de componentes principales	94
Análisis discriminante	96
4- DESARROLLO LARVARIO	99
Morfogénesis	99
Evolución y desarrollo de las larvas	100
Evolución de las valvas	110
5- DINÁMICA POBLACIONAL	114
<b>DISCUSIÓN</b>	<b>123</b>
BIOLOGÍA REPRODUCTORA	125
Anatomía, desarrollo y maduración de la gónada	125
Ciclo sexual	127
Estrategias reproductoras	129
Fecundación / gravidez	129
Ganglio neuroma	131
Incubación larvaria	132
DESARROLLO LARVARIO	136
DINÁMICA POBLACIONAL	139
<b>CONCLUSIONES</b>	<b>149</b>
<b>BIBLIOGRAFÍA</b>	<b>153</b>
<b>APÉNDICES</b>	<b>167</b>



## AGRADECIMIENTOS

La realización de este trabajo ha sido posible gracias a la colaboración de muchas e imprescindibles personas, soy consciente de que sin ellas no hubiera podido terminar mi tesis. Mi profundo agradecimiento a cada una de ellas. Es muy emocionante saber que se tiene una familia y tantos amigos maravillosos. Gracias.

Este trabajo ha sido posible gracias a una beca predoctoral del Ministerio de Educación y Ciencia e integrada en el proyecto Fauna Ibérica. La realización de este trabajo se ha llevado a cabo en el Museo Nacional de Ciencias Naturales (MNCN).

Mi agradecimiento a mis directores de tesis, M<sup>a</sup> Angeles Ramos y Rafael Araujo, por la orientación y ayuda que me han prestado en su realización. M<sup>a</sup> Angeles Ramos fue la persona que me permitió trabajar en el Museo. Disfruté enormemente con la separación de muestras marinas de las campañas oceanográficas del Proyecto Fauna Ibérica, que ella coordinaba. Posteriormente, me introdujo en el mundo del agua dulce e hizo lo posible para que consiguiera la beca predoctoral para la realización de esta tesis. Le agradezco, también, el regalo de participar en la Campaña oceanográfica "Fauna Ibérica III, que me resultó emocionante. Ha sido una persona cercana que me ha demostrado su cariño en muchas ocasiones. A ella todo mi agradecimiento. Rafael Araujo además me enseñó las diversas técnicas de muestreo en un viaje a Galicia en el que disfruté mucho.

Quiero hacer una mención especial al trabajo realizado por mi gran amiga Beatriz Arconada. Sin ella no hubiera sido posible esta tesis. Ha sido la persona que más me ha ayudado, apoyado y ha estado pendiente, hasta el último momento, para que este trabajo salga adelante. Durante dos años fue mi compañera en los muestreos de campo, en el río Miño. Juntas hemos compartido largas horas de despacho, de tren, en el campo y grandes risas y conversaciones durante los viajes a Tuy. Igualmente, en el laboratorio me ayudó en la medida de los ejemplares (que no son pocos) y en el proceso de histología. Sus consejos y orientación me han resultado imprescindibles. Durante estos años en que mi tesis ha estado "parada", en muchas ocasiones, he pensado que tenía que acabar este trabajo, porque se lo debía a Bea, a todo el trabajo que ella ha hecho por mí. No hay palabras para demostrar todo lo que Bea ha supuesto para esta tesis.

Otra de las personas clave en la culminación de este trabajo ha sido Pepe Fernández. Sus horas altruistas de maquetación y sus consejos clave, han sido decisivos para que esta tesis tuviera un fin. Su sensibilidad y su forma de ser han sido corrientes de aire fresco. Su modestia le impedirá reconocerlo pero así ha sido. Sólo yo sé la vergüenza que me he tragado por tener que haberle hecho trabajar de esa manera. Gracias Pepe por ser así.

Mi agradecimiento a mis padres que son el origen de todo mi trabajo, son los que desde pequeña me han guiado y me han apoyado en mis estudios, siempre demostrándome su confianza. Les agradezco su ayuda y cariño, así como su atención a mis hijos. Mi madre ha estado todos estos años recordándome que este trabajo debía acabarse, por mí, y porque me lo merecía. Siempre he considerado que también tenía que acabarlo por ellos, porque ellos sí se lo merecen.

Le agradezco a amigo David Buckley lo buena persona que es. Ha sido un excelente y relajante compañero de trabajo, primeramente en el Museo y después en la clínica de Reproducción, donde compartimos junto con Antonio, cuatro años de trabajo, risas, silencios y locuras ajenas. Sé que siempre se puede contar con él y, ¡como no!, me lo ha demostrado estos meses. Gracias por tu ayuda incondicional y tu relajante suavidad.

Con José Bedoya, técnico de microscopía electrónica, compartí muchas horas de opiniones comunes y conversaciones afines. Las excelentes fotos al M.E.B. son fruto de su habilidad y orientación, cualidades que siempre me resultaron "pasmosas". Personalmente me ayudó en la elaboración del apartado de microscopía electrónica del material y métodos. Josefo te añoro y te tengo en mi pensamiento.

Mi agradecimiento a mi amigo Ignacio de la Riva que tan certeramente me ha aconsejado. Ha sido un gran apoyo durante todos estos años, así como, un "terapeuta de la risa". Relajantes nuestros añorados partidos de frontón. A su mujer, Paloma Lauzurika por los ánimos que siempre me da con su simpatía habitual y las horas de charlas pasadas.

A Annie Machordon le agradezco enormemente su fuerza de apoyo, sus palabras de ánimo, sus consejos y su luchadora forma de ser que siempre me ha gustado. Estos últimos meses, en los que hemos hablado más frecuentemente, le agradezco su ayuda nocturna prestada.

Agradezco la ayuda de Oscar Soriano que fue quien primeramente me introdujo en el Museo, me condujo y presentó a M<sup>a</sup> Angeles Ramos para que pudiera colaborar en el Proyecto Fauna Ibérica. Su chispa y "cinismo" siempre me han gustado, le eché de menos cuando me cambié de trabajo.

A Vicky Remón tan eficiente en su labor profesional, siempre atenta de que no me faltara el dinero (nada) de los muestreos; agradezco su puntualidad en las labores administrativas y le agradezco personalmente

el apoyo que siempre me demostró y me sigue demostrando. Chemi Remón me enseñó el funcionamiento y el "orden estricto" de un laboratorio, doctrina que me ha sido de gran utilidad durante mis años profesionales posteriores. Igualmente me ayudó en varios muestreos de campo.

A los integrantes del departamento de fotografía del Museo, Rogelio Sánchez, Jesús Muñoz y Fernando Señor, les agradezco su profesionalidad y consejos. Quiero hacer una mención especial a Rogelio Sánchez, al que considero tan profesional como eficiente; le agradezco su rápida ayuda y el apoyo que me ha mostrado siempre unido a su fresco sentido del humor y su alta calidad como persona.

Mi afectuoso agradecimiento a Josefina Cabanillas que con tanta delicadeza y destreza realizó miles de secciones histológicas. Es envidiable su capacidad de perfeccionamiento.

Pedro Rincón, generosamente me orientó y adoctrinó en el capítulo de dinámica poblacional. Antonio Sousa que, siempre con la sonrisa en la cara, nos esperaba diligentemente a la llegada del tren, con un coche preparado. El pescador Julio Piña que sin dormir (por haber trabajado en el río durante toda la noche), en varias ocasiones, nos sacó en barca por el río Miño para muestrear.

Agradezco sinceramente a mis amigas Marta Oteo y Rocío Climent sus constantes palabras de ánimo y apoyo. A Marta algún día tendré que abonarle las largas conversaciones telefónicas mantenidas.

A los muchos compañeros del MNCN que han contribuido a que los años pasados en él hayan sido tan buenos y positivos. A Marina Alcobendas que tanto cariño le tengo, sus palabras de ánimo siempre han sido especiales para mí. A Felipe Morcillo, amigo en el Instituto y posterior compañero del Museo le agradezco su afecto y apoyo. A Carmen (de centralita), que siempre me ha demostrado su cariño y apoyo; quiero decirle que el cariño es mutuo. A Isabel Rey por sus palabras de ánimo e información de los temas de doctorado. A Ana Bel por las estupendas horas de frontón compartidas y el ánimo y cariño demostrado. María Valladolid me orientó y aconsejó en los comienzos de nuestro estudio histológico. Agradezco la compañía, ayuda y buenos momentos recibidos de mis compañeros del Museo, de todos los anteriormente mencionados y de Marta Calvo, Pepe Templado, Lola Bragado, José L. Velasco, Marisa Esteban, Carolina Noreña, M<sup>a</sup> José Blanco y Cristina Grande.

A mis compañeras del Hospital, Toñi González, M<sup>a</sup> Antonia García-Largo, M<sup>a</sup> José Ortigas y Natalia Ayuso, que han hecho lo posible para que tuviera tiempo para estudiar y han aguantado mis nervios de los últimos meses. Especialmente, agradezco a Toñi González su constante buen humor y lo bien que se ha portado conmigo, cubriéndome el puesto en numerosas ocasiones, para que pudiera ir a la biblioteca. Gracias por las horas compartidas juntas y por las situaciones tan graciosas que hemos vivido en el laboratorio. Es una alegría compartir trabajo con una persona de su carácter.

Todo mi agradecimiento a mi familia y amigos, que tanto me han ayudado con mis hijos. En primer lugar mis suegros, que tantas tardes se han ocupado de ellos y de mí. Se han preocupado de que pudiera estudiar, que estuviera bien alimentada y no me faltara de nada. Mis amigos, Susana Muñoz y Luis Mejías, que han hecho todo lo que han podido para ayudarnos con los niños, intentando que no se note mi ausencia. Gracias Susana por ser una persona tan maravillosa, por tu apoyo y tu amistad. Mi amiga Maribel que, siempre generosamente y con buena disposición, nos ha ayudado con los niños. A Chiqui Lara Luna, siempre mi agradecimiento, por ser la mejor "cuidadora de mis hijos" y por la alegría que les ha enseñado a tener. A Aura Alexandría por el cariño y afecto con el que cuida actualmente de mis hijos.

En un apartado muy especial quiero reflejar mi amor por Antonio. Su apoyo incondicional, su demostrada confianza en mí y su maravillosa capacidad como padre, han sido mi fuerza. Sin Antonio no hubiera podido acabar este trabajo, él me ha dado serenidad y autoestima en los muchos momentos en que me ha fallado. También fue un buen compañero de muestreo en los meses de verano. En los últimos meses, tengo que agradecerle profundamente su labor como padre, madre y gerente de nuestra casa. Él, mejor que nadie, sabe el esfuerzo que he realizado y le agradezco especialmente que no haya tenido en cuenta la crispada actitud que, en ocasiones, he tenido. Éste último año ha sabido distraer a nuestros hijos de una manera tan acertada que, prácticamente, no han notado mi ausencia. Quiero recalcar que éste es uno de los puntos en los que más agradecimiento y respeto quiero mostrar.

A toda mi familia y amigos, y en especial a Antonio, les pido perdón por los días de nervios y ausencia. Espero recomendarles.

Agradezco a mis hijos, Sofía y Andrés, su existencia.

# **INTRODUCCIÓN**



*Corbicula* Mergele von Mühlfeld, 1811 es un género de moluscos bivalvos heterodontos cuyas especies habitan de forma natural las aguas dulces y estuarios del Sureste de Asia, África, India, islas del Pacífico y Australia (McMAHON, 1983). Existen citas fósiles de *Corbicula* en Europa, Norteamérica y Japón (BRITTON Y MORTON, 1979).

Desde 1924, en que se detectan por primera vez conchas de *Corbicula fluminea* (Müller, 1774) en Canadá (COUNTS, 1981), las citas de ejemplares vivos y poblaciones florecientes se suceden en gran parte de América del Norte primero, luego en Suramérica y posteriormente en Europa. La rápida invasión y expansión de *Corbicula* está teniendo graves consecuencias no sólo ecológicas, por la alteración de los ecosistemas que coloniza, sino también económicas de diversa índole. En Norteamérica el impacto mayor a nivel económico causado por *C. fluminea* ha sido el generado por la contaminación masiva de los sistemas de agua naturales (McMAHON, 1983), y más concretamente la gran acumulación de valvas en las estaciones hidroeléctricas, que han supuesto la aplicación de medidas de control, reparación y sustitución de los sistemas, todo ello traducido en un coste, estimado en 1986, de un billón de dólares (ISOM, 1986).

El impacto de esta invasión, sin precedentes, ha despertado el interés por el género a escala mundial. Se hace necesario, en primer lugar, identificar la(s) especie(s), es decir, saber cual o cuales son las especies colonizadoras, y posteriormente determinar cuales son sus estrategias reproductoras, ciclos de vida y capacidad de dispersión para combatir eficazmente la plaga.

El esclarecimiento de la taxonomía del género es una prioridad y hoy en día objeto de debate. Se han llegado a describir centenares de especies, sobre todo en Asia, basadas en caracteres conquiológicos. Posteriormente PRASHAD (1928a, 1928b, 1929, 1930) reduce el número de especies asiáticas a 69. Sin embargo, el estudio posterior de estrategias reproductoras, fisiología y ecología ha levantado la polémica sobre si todas las especies previamente descritas son sólo variedades morfológicas de dos únicas especies, *C. fluminea* y *C. fluminalis*, que son las que poseen gran potencial invasor, junto a otros endemismos en zonas muy restringidas (MORTON, 1979b, 1986). *Corbicula fluminalis* (Müller, 1774) aparecería preferentemente en aguas salobres lénticas y *C. fluminea* en hábitats lóticos de agua dulce. Más recientemente, diversos estudios cromosómicos (en Japón, OKAMOTO Y ARIMOTO, 1986) y genéticos (comparando poblaciones de Norteamérica, Asia, Madagascar y Australia, SIRIPATRAWAN *et al.*, 2000) sugieren la existencia de varios linajes distintos en aguas dulces, en contraposición con la hipótesis de una especie única invasora de las aguas dulces (MORTON, 1986).

Las primeras referencias de *Corbicula* en Europa, introducida probablemente vía Norteamérica, datan de la década de los 80. MOUTHON (1981) cita dos poblaciones de *C. manilensis* (sinónimo de *C. fluminea* según MORTON, 1979b), una en Francia (Baja Dordogne) y otra en Portugal (estuario del Tajo). En España, la primera cita corresponde al río Guadiana (Sanlúcar de Barrameda, PÉREZ-QUINTERO, 1990). Posteriormente, durante los muestreos llevados a cabo en el río Miño para el estudio de la biología reproductora de *Pisidium amnicum* (Müller, 1774) (ARAUJO, 1995) se colectan tres ejemplares juveniles de una especie de *Corbicula* (ARAUJO *et al.*, 1993). Estos autores llevan a cabo un estudio mor-

fológico y morfométrico, junto a una revisión taxonómica de las series tipo de *C. fluminea*, *C. fluminalis* y *C. fluviatilis*, concluyendo que los ejemplares corresponden a la especie *C. fluminea*. A partir de ese momento se detecta una explosión demográfica y expansión geográfica de la especie en el Miño, que plantea la necesidad de un estudio pormenorizado de las características de esta población, de su ciclo de vida y de su biología reproductora, que son los objetivos de esta tesis doctoral.

## ANTECEDENTES

### TAXONOMÍA

El género *Corbicula* Mergele von Mühlfeld, 1811, pertenece a la clase Bivalvia, subclase Heterodonta, orden Veneroidea, superfamilia Corbiculoidea y familia Corbiculidae (VAUGHT, 1989). La taxonomía del género comienza en 1774 con Müller, que describe tres especies en el género *Tellina* Linnaeus, 1758: *T. fluminea*, *T. fluviatilis* (ambas con localidad tipo en Cantón, China) y *T. fluminalis* (localidad tipo, río Éufrates, Mesopotamia).

Las diferentes especies de *Corbicula* se distribuyen de forma natural en las aguas dulces y estuarios del Sureste de Asia, África, India, Islas del Pacífico y Australia (McMAHON, 1983).

En la revisión de las especies asiáticas del género *Corbicula*, PRASHAD (1924, 1928a, 1929, 1930) sinonimiza *C. fluviatilis* con *C. fluminea* y reduce el número de especies asiáticas a 69. En 1977, Habe (en MORTON, 1986), reduce las especies de *Corbicula* halladas en Japón a cuatro: *C. fluminea* (Müller, 1774), *C. leana* Prime, 1864, *C. japonica* Prime, 1864 y *C. sandai* Reinhardt, 1878. Posteriormente MORTON (1979b, 1986) concluye que, en base a las características de la concha, estrategias reproductoras, fisiología y ecología, existen solamente dos especies en Asia: *C. fluminea* (Müller, 1774) y *C. fluminalis* (Müller, 1774); este autor (MORTON, 1986) considera *C. leana* sinónimo de *C. fluminea* y *C. japonica* sinónimo de *C. fluminalis*. MORTON (1986) menciona también otras dos especies que pueden ser consideradas como variedades morfológicas o endemismos de zonas muy restringidas: *C. sandai*, del Lago Biwa, Japón (Mori, 1978, en MORTON, 1986) y *C. largillierti* (Philippi, 1844), de los lagos del río Yangtze, China (Liu *et al.*, 1979, en MORTON, 1986). Recientemente ARAUJO *et al.* (1993) designan un neotipo de *C. fluviatilis*.

Las características principales de las dos únicas especies de *Corbicula* consideradas por MORTON (1979b y 1986) en Asia son:

*Corbicula fluminalis*: prefiere aguas salobres de corrientes lentas (lénticas); tolera salinidades elevadas; presenta una concha triangular y alta, de anillos espaciados, con una longitud máxima de 54-60 mm; tiene un máximo de vida de 10 años y realiza una sola evacuación de gametos por año ("single spawning"), coincidiendo con bajas temperaturas; es una especie primeramente dioica con tendencia al hermafroditismo protogino (hermafroditismo secuencial, gónada primeramente femenina y posteriormente masculina sin revertir a

la primera condición, HOAGLAND, 1984), no incubaba los huevos fertilizados y posee una larva velígera nadadora de vida libre (MORTON, 1973, 1982).

*Corbicula fluminea*: prefiere hábitats de agua dulce de corrientes rápidas (lóticas), presenta baja tolerancia a la salinidad, tienen una concha redondeada, con una longitud máxima de 35 mm; tiene un promedio de vida de 2-3 años; posee dos picos de evacuación de gametos ("spawning") al año, preferentemente a temperaturas elevadas; es hermafrodita protándrica (gónada primeramente masculina y posteriormente femenina sin revertir de estado, HOAGLAND, 1984), incubaba los huevos fertilizados en las demibranquias internas y libera estados juveniles no nadadores (MORTON, 1977a, 1982). Debido a su enorme capacidad colonizadora, está considerada como una plaga. Se ha expandido prácticamente por todo el mundo, siendo especialmente destacable su rápida colonización por Norteamérica (atravesada de costa a costa en 50 años) y posteriormente por Europa.

En el año 2000, SIRIPATRAWAN *et al.* publican un estudio genético comparado de distintas poblaciones de *Corbicula* procedentes de Norteamérica, Este de Asia, Madagascar y Australia (ver apartado de variabilidad genética) cuyos resultados determinan seis linajes diferentes: *C. japonica*, *C. leana* y *C. sandai* (los tres en Japón), *C. madagascariensis* Smith, 1882 (Madagascar), *C. australis* (Deshayes, 1830) (Australia) y dos linajes de *C. fluminea*, en Taiwan y en Corea. Además consideran que en Norteamérica hay dos linajes (A y B), cuyos haplotipos son idénticos al de *C. leana* y al de *C. fluminea* de Corea respectivamente. Por todo ello se presenta el problema de considerar si existe una única especie de agua dulce, *C. fluminea*, como anteriormente se creía (MORTON, 1979b, 1986) o bien existen varias especies.

A continuación se expone una revisión general sobre la expansión de *Corbicula* spp. por los diversos continentes de los que se tiene cita de su presencia.

## EXPANSIÓN DE *CORBICULA* SPP. POR EL MUNDO

### Norteamérica

Los primeros ejemplares de *Corbicula fluminea* recogidos en el continente americano fueron tres conchas vacías recolectadas en febrero de 1924 en Nanaimo (Vancouver Island, Columbia Británica, Canadá) (COUNTS, 1981). La primera cita de ejemplares vivos procede del Río Columbia (Pacific County), Washington, en 1938 (Burch, 1944, en COUNTS, 1981). A partir de este momento, *Corbicula* se expande rápidamente por toda Norteamérica. La siguiente cita en la costa oeste proviene de California en 1945 (Hanna, 1966, en COUNTS, 1986). La especie continúa su expansión y años más tarde aparece en Tennessee en 1959 (SINCLAIR E ISOM, 1961), en Florida en 1964 (HEARD, 1964), y alcanza la costa este en la década de los setenta, siendo observada en distintos estados: Georgia en 1971 (SICKEL, 1973), Carolina del Sur en 1972 (FULLER Y POWELL, 1973), Virginia en 1974 (DÍAZ, 1974), y Maryland en 1975 (Scotts *et al.*, 1977, en COUNTS, 1986). En la revisión realizada por COUNTS (1986), se

cita la presencia de *Corbicula* sp. en 33 estados. Hasta el momento, no se ha citado su presencia en los siguientes estados: Montana, Wyoming, Dakota del Norte, Dakota del Sur, Nebraska, New York, Vermont, New Hampshire, Maine, Massachusetts, Rhode Island y Connecticut (McMAHON, 2000).

El límite septentrional de *Corbicula* en Norteamérica, parece estar definido por las bajas temperaturas invernales (McMAHON, 1983). En los fríos climas nortños, la presencia de *Corbicula* parece estar asociada a centrales eléctricas que descargan de manera artificial agua caliente a los ríos (RODGERS *et al.*, 1979; GRANEY *et al.*, 1980; Dreier y Tranquilli, 1981, en McMAHON, 1983; FRENCH Y SCHLOESSER, 1991; WARD Y HODGSON, 1997), aunque también hay citas de poblaciones no asociadas a descargas industriales (JANECH Y HUNTER, 1995).

Generalmente, las citas de *Corbicula* en Norteamérica se refieren a tres especies: *C. fluminea*, *C. manilensis* (Philippi, 1844) y *C. leana*, siendo las dos primeras las más frecuentes: *C. fluminea* normalmente asignada a las poblaciones de la costa oeste (Burch, 1944, en McMAHON, 1983) y *C. manilensis*, en la mitad este (SINCLAIR E ISOM, 1961, 1963; SINCLAIR, 1975). La presencia de la especie *C. leana* se ha mencionado de manera ocasional (GUNNING Y SUTTKUS, 1966; McMAHON, 1983).

MORTON (1979b y 1986) y BRITTON Y MORTON (1979, 1986) concluyen que en Norteamérica solamente ha penetrado una especie del género: *C. fluminea*.

Sin embargo, como ya se ha mencionado, SIRIPATTRAWAN *et al.* (2000), consideran que en Norteamérica hay dos linajes diferentes, Forma A y Forma B, que se corresponden genéticamente con *C. leana* (de Japón) y *C. fluminea* (de Corea) (ver apartado de "variabilidad genética").

## Suramérica y Centroamérica

En Suramérica se introdujeron especies del género *Corbicula* posiblemente por la cuenca del río de La Plata (Argentina y Uruguay) entre 1965 y 1975 (ITUARTE, 1981). Los primeros ejemplares recogidos datan de 1979 y proceden de arroyos localizados en la localidad de Punta Lara (Argentina) (ITUARTE, 1981). Se han citado dos especies: *C. fluminea* y *C. largillierti* (Philippi, 1844). En 1978, *Corbicula* spp. fue recolectada en las cuencas de los ríos Jacuá y Guaíba (Rio Grande do Sul, Brasil) y los ejemplares identificados como *C. manilensis* (VEITENHEIMER-MENDES, 1981). En 1983, Veitenheimer-Mendes y Olazarry (en ITUARTE, 1994) proporcionan nuevas citas en el río Uruguay (Departamento de Colonia, Uruguay) y en la orilla este del río de La Plata (Departamento de San José, Uruguay). Olazarry (1986, en ITUARTE, 1994) describe la presencia de *C. fluminea* y *C. largillierti* en la cuenca del río Uruguay. En 1985, DARRIGRAN (1993) realiza la primera mención del ingreso de ambas especies en los ambientes lénticos y lóticos anejos al Río de La Plata. Se tienen nuevas citas del ascenso de ambas especies por el río Paraná, encontrándose en la Provincia de Corrientes (Argentina) en 1994 (ITUARTE, 1994). A su vez, se demuestra su ascenso por el río Uruguay, siendo la cita más septentrional conocida hasta Santo Tomé (provincia de Corrientes, Argentina). En 1987, MARTÍNEZ cita por primera vez la presencia de *C. manilensis* en Venezuela.



En 1992 se cita la presencia de *Corbicula fluminea* en el lago La Jía de Camagüey en Cuba (DIÉGUEZ *et al.*, 1997). En el año 2000, fueron hallados ejemplares adultos de *C. fluminea* en dos pantanos del noroeste de Puerto Rico (WILLIAMS *et al.*, 2001) y en el año 2003 se cita por primera vez la presencia de *C. fluminea* en Panamá (COUNTS *et al.*, 2003).

## Europa

Las especies del género *Corbicula* fueron introducidas en Europa vía Norteamérica en la década de 1980, penetrando por el océano Atlántico o por el mar del Norte, e invadiendo estuarios de numerosos ríos (KINZELBACH, 1991).

La primera referencia en Europa es de MOUTHON en 1981 que cita dos poblaciones, una en la Baja Dordogne (Francia) y otra en el estuario del Tajo (Portugal). Ambas poblaciones son consideradas *C. fluminalis*, en base a MORTON (1977).

En 1989 NAGEL cita por segunda vez la presencia de *C. fluminalis* en Portugal, en el río Duero al este de Oporto. En la Península Ibérica, *Corbicula* sp. se va expandiendo por casi todos los ríos de la vertiente atlántica y en 1990 se cita por primera vez en España, en el río Guadiana (Sanlúcar del Guadiana, Huelva) (PÉREZ-QUINTERO, 1990). ARAUJO *et al.* (1993) citan dos nuevas poblaciones situadas en el río Miño (Goian, Pontevedra, España) y en el río Duero (Regua, Portugal) respectivamente; en base a características anatómicas, morfología de la concha, y estrategia reproductora (especie incubadora), se concluye que la especie encontrada es *C. fluminea*. En 1995, se encuentra una población de *C. fluminea* en el Canal de Gumá perteneciente al río Duero (Aranda de Duero, Burgos) (JIMÉNEZ *et al.*, no publicado) y en 1996 se cita en el río Ebro (LÓPEZ Y ALTABA, 1997).

En 1992, HAESLOOP cita el hallazgo, en 1984, de poblaciones bien establecidas de *Corbicula fluminalis* en el estuario del río Weser (Norte de Alemania), aunque el autor considera que la primera colonización debió suceder mucho antes.

En 1988 se encuentran por primera vez en Holanda ejemplares vivos de *C. fluminea* (BIJ DE VAATE Y GREIJ DANUS-KLAAS, 1990). Se trata de dos localidades en la zona litoral del río Lek y en la Holland Diep, apuntándose la posibilidad de que la especie colonizara la zona durante los años 1985 o 1986. En 1989 se observa una nueva población en la zona litoral de la confluencia del río Meuse con una de las ramas del río Rhin (BIJ DE VAATE Y GREIJ DANUS-KLAAS, 1990) y un año después BLANKEN (1990) cita una nueva población de *C. fluminalis* a 10-12 km aguas arriba de la población antes mencionada.

En 1990 *C. fluminea* ha ascendido por el río Rhin colonizando nuevos hábitats aguas arriba en Alemania, hallándose ejemplares aislados en Oberwinter (cerca de Bonn) (BIJ DE VAATE, 1991; NAGEL, 1997). MEISTER (1994) cita la presencia simultánea de *C. fluminea* y *C. fluminalis* en el río Rhin (cerca de Wiesbaden).

En el resto de Europa numerosas citas de la presencia de *Corbicula* spp. se suceden en distintas cuencas hidrográficas: En Francia: en el Canal du Midi (GIRARDI, 1990), en el río Loira (GRUET, 1992), en un canal lateral a la Garonne (DUBOIS, 1995), nuevas citas en el río Loira (CHOUIN, 1997) y en las proximidades de Bayona (NAGEL, 1997).

En los años posteriores se publican continuas citas de la aparición de *C. fluminea* en distintos países del continente europeo: en 1999, aparece en Gran Bretaña, en el río Chet en Norfolk (HOWLETT Y BAKER, 1999); en Austria (FISCHER Y SCHULTZ, 1999) y en Italia, en la zona media del río Po (MALAVASI *et al.*, 1999). En 2000 aparece en Rumanía, en el río Danubio (BIJ DE VAATE Y HULEA, 2000) y al año siguiente es encontrada en el mismo río en Bulgaria (HUBENOV, 2001).

La presencia simultánea de *C. fluminea* y *C. fluminalis* se cita por primera vez en Hungría en 1999, en el tramo bajo del río Danubio (CSÁNYI, 1999). Ambas especies también se citan en Bélgica, en el río Meuse (NGUYEN Y DE PAUW, 2002).

### VARIABILIDAD GENÉTICA EN *CORBICULA FLUMINEA*

Con el fin de esclarecer la taxonomía de las especies del género *Corbicula*, a partir del año 1979 se comienzan a aplicar técnicas moleculares en el estudio de las diferentes poblaciones. Los primeros datos sobre la variabilidad genética de poblaciones de *Corbicula* spp. en Norteamérica, basados en la electroforesis de aloenzimas, muestran niveles de heterocigosis nulos (SMITH *et al.*, 1979) o muy bajos (0.0049, MCLEOD Y MONTANARO, 1980). Como consecuencia de estos resultados, se concluye que en el país sólo existe una especie de *Corbicula*, describiendo además que presenta una gónada hermafrodita y capacidad de autofecundación. En los estudios llevados a cabo por SMITH *et al.* (1979) en cinco poblaciones norteamericanas (California, Arkansas, Texas, Tennessee y Carolina del Sur) y cuatro asiáticas (Hong Kong, Japón y dos de Filipinas), se observa que no existe variabilidad genética entre las poblaciones americanas, la variabilidad es pequeña entre las poblaciones de Hong Kong y Filipinas y la población japonesa es la más divergente y variable de las estudiadas. Los autores consideran que ésta última pudiera pertenecer a una especie diferente.

Sin embargo, en estudios posteriores (HILLIS Y PATTON, 1982 y MCLEOD, 1986) se encuentran diferencias aloenzimáticas y morfológicas en diferentes poblaciones norteamericanas. HILLIS Y PATTON (1982) consideran que las diferencias indican que en Norteamérica han penetrado dos especies diferentes que denominan como “forma blanca” y “forma morada”. Consideran que la forma blanca fue la que primero penetró y no encuentran dentro de cada morfotipo variabilidad genética interpoblacional. Los datos de MCLEOD (1986) apuntan la posibilidad de múltiples entradas de *Corbicula* (por la costa oeste y por el río Ohio) y la existencia de varios linajes dentro de la población.

Sin embargo, y teniendo en cuenta tanto los trabajos aloenzimáticos mencionados, como los resultados del estudio de dinámica poblacional, morfometría, reproducción, ecología y fisiología de ambos morfos de *Corbicula* spp. en dos localidades de Texas, BRITTON Y MORTON (1986) concluyen que no existen evidencias suficientes que justifiquen el modelo de dos especies de *Corbicula* en Norteamérica. Según estos autores (BRITTON Y MORTON, 1986) un criterio aislado (sea genético, morfológico, reproductivo, etc.) no resuelve adecuadamente el problema, y consideran que para resolverlo deben conjugarse todos los criterios biológicos posibles.

Posteriormente, MORTON (1987) lleva a cabo en Hong Kong, un estudio similar al realizado en Norteamérica por BRITTON Y MORTON (1986), esta vez sobre tres morfos de *C. fluminea* observados (morfo claro, morfo oscuro y morfo intermedio). Se analizan las poblaciones de cuatro estaciones pertenecientes a dos ríos diferentes, diversos parámetros del agua, así como la morfometría de la concha y la estrategia sexual de cada morfo. MORTON (1987) concluye que *C. fluminea* presenta diferentes ecomorfos, no especies, probablemente adaptados a diferentes condiciones ambientales. Estudios aloenzimáticos posteriores (TSOI *et al.*, 1991) apoyan este argumento ya que no encuentran diferencias genéticas entre los morfos claro y oscuro de *C. fluminea* en Hong Kong. Estos autores concluyen que en Hong Kong hay una única especie de *Corbicula*, *C. fluminea*, con un promedio de heterocigosis de 0.1%. También apuntan la posibilidad de autofecundación en la especie.

KIJVIRIYA *et al.* (1991) observan nuevamente niveles muy bajos de heterocigosis y de variabilidad poblacional en 40 muestras de *Corbicula* de Tailandia, sugiriendo la posibilidad de autofecundación. Los autores proponen que las 20 poblaciones de *Corbicula* estudiadas sean sinonimizadas como *C. fluminea*. WOODRUFF *et al.* (1993) confirman la sinonimia de las especies tailandesas basándose en la comparación con una muestra topotípica de *C. fluminea*.

OKAMOTO Y ARIMOTO (1986) estudian la dotación cromosómica en las especies de *Corbicula* presentes en Japón. Se describe *C. leana* (3n: 54) como una especie triploide, y *C. japonica* (2n: 38) y *C. sandai* (2n: 36) como diploides. Posteriormente, KOMARU *et al.* (1997) describen a *C. fluminea* de Taiwan como una especie diploide (2n: 36) y concluyen que tanto *C. leana* como *C. fluminea* presentan un tipo de espermatozoide "non reductio-nal" (= con el mismo contenido en ADN que las células somáticas) a diferencia de *C. sandai* que tiene la mitad de contenido de ADN en sus espermatozoides. En un estudio comparado sobre la morfología del espermatozoide en bivalvos de agua dulce, el mismo equipo (KONISHI *et al.*, 1998) concluye que *C. leana* y *C. fluminea* presentan un espermatozoide biflagelado frente al espermatozoide monoflagelado de *C. sandai* y del resto de los bivalvos estudiados.

En el año 2000, SIRIPATRAWAN *et al.* publican un estudio genético sobre ejemplares de *Corbicula* procedentes de Norteamérica, este de Asia, Madagascar y Australia. Analizando las secuencias parciales del gen mitocondrial Citocromo Oxidasa I concluyen que los linajes de *Corbicula* de agua dulce son genéticamente heterogéneos, lo que contradice el modelo de especie única que englobaba todas las poblaciones de agua dulce del género *Corbicula*. Según estos autores, y a partir de los datos genéticos, en Japón hay tres linajes de *Corbicula*: *C. japonica* (especie de aguas salobres, gonocórica, diploide y no incubadora), *C. leana* (especie de agua dulce, hermafrodita, triploide e incubadora) y *C. sandai* (de agua dulce, endémica del Lago Biwa, gonocórica, diploide y no incubadora). Los otros linajes mitocondriales detectados se corresponderían con *C. madagascariensis* (Madagascar), *C. australis* (Australia) y dos linajes de *C. fluminea*, en Taiwan y en Corea. Además consideran que en Norteamérica hay dos linajes (A y B) que se corresponden con los morfos blanco y morado descritos por HILLIS Y PATTON (1982). Estos dos linajes son genéticamente homogéneos, presentando un único haplotipo cada uno. Los haplotipos de ambos morfos difieren

en 16 nucleótidos y son idénticos al de *C. leana* ("Forma A") y al de *C. fluminea* de Corea ("Forma B") respectivamente. Ambas especies (*C. leana* y *C. fluminea* de Corea) así como las dos formas A y B son triploides ( $3n: 54$ ) y presentan un espermatozoide biflagelado. Los dos linajes difieren en su rango de extensión: la forma B se encuentra restringida al suroeste de Norteamérica, mientras que la forma A se encuentra más ampliamente distribuida.

Las distancias genéticas más altas entre todos los haplotipos se observan entre *C. japonica* y el resto de especies ( $>12\%$ ). Dentro del grupo de las Corbículas asiáticas y australianas, las divergencias más altas se dan entre *C. leana* y *C. australis* (4,11%).

En el análisis filogenético llevado a cabo (SIRIPATRAWAN *et al.*, 2000), *C. japonica* aparece como la especie basal dentro del género *Corbicula*. Estos autores destacan, además, que los linajes de Corbículas de agua dulce, así como el grupo de especies de Asia oriental y australianas son monofiléticos, aunque las relaciones filogenéticas entre las especies de este último grupo no pudieron establecerse de forma robusta tras el análisis.

## REPRODUCCIÓN

Numerosos estudios sobre el comportamiento reproductivo de *Corbicula* han demostrado que adopta estrategias reproductoras diferentes. En Asia se han descrito las siguientes: MORTON (1977a) describe *C. fluminea* de Hong Kong como una especie hermafrodita protándrica consecutiva, con ejemplares que alcanzan la madurez sexual masculina con 7 mm de longitud. Posteriormente, este autor (MORTON, 1983) considera que la estrategia sexual puede estar condicionada por el medio debido a que encuentra ejemplares hermafroditas y dioicos en ambientes lénticos e individuos hermafroditas y hembras en ambientes lóticos, (no observa machos). A su vez CHEN *et al.* (1994) citan ejemplares dioicos y hermafroditas en tres poblaciones de *C. fluminea* de Taiwan.

Por otro lado, *C. fluminea* ha sido citada como hermafrodita simultánea en Malasia (Berry, 1974 en McMAHON, 1983). IKEMATSU Y YAMANE (1977) describen *C. leana* como hermafrodita simultánea con capacidad demostrada de autofecundarse. En Asia se han citado emisiones larvarias bianuales en diferentes países como: Filipinas (VILLADOLID Y ROSARIO, 1930), Hong Kong (MORTON, 1977a) y Japón (Fuziwara, 1978, en BRITTON Y MORTON, 1979).

En Norteamérica, muchos autores han descrito *C. fluminea* como una especie hermafrodita simultánea: en California (HEINSOHN, 1958; ENG, 1979), en Tennessee (SINCLAIR E ISOM, 1963), en Texas (BRITTON *et al.*, 1979), en Arkansas (KRAEMER Y LOTT, 1977) y en Maryland (KENNEDY Y VAN HUEKELEM, 1985). KRAEMER (1978 y 1986) describe *C. fluminea* como hermafrodita protoogámica (primero madura la gónada femenina).

La mayoría de los estudios sobre el comportamiento reproductivo de *C. fluminea* en Norteamérica reflejan periodos de emisión o liberación de gametos ("spawning") marcados por dos picos de liberación larvaria y/o de juveniles, uno en primavera y otro en otoño, separados por una reducción o cese total de la liberación durante el verano e invierno (HEINSOHN, 1958; Coldiron, 1975, en BRITTON *et al.*, 1979; ALDRIDGE, 1976; Dreier, 1977, en McMAHON, 1983; ALDRIDGE Y McMAHON, 1978; ENG, 1979; SICKEL, 1979; BOOZER Y MIRKES, 1979;

BRITTON *et al.*, 1979; Dreier y Tranquilli, 1981, en McMAHON, 1983; KENNEDY Y VAN HUEKELEM, 1985; BRITTON Y MORTON, 1986; MATTICE Y WRIGHT, 1986; McMAHON Y WILLIAMS, 1986; WILLIAMS Y McMAHON, 1986; BUSHEK Y CAMERON, 1992).

Por otro lado, otros autores citan un solo periodo de liberación ("spawning") anual: en California (Bickle, 1966 en ENG, 1979), en Tennessee (SINCLAIR E ISOM, 1961) y en Argentina (ITUARTE, 1985).

Este tipo de reproducción estacional está aparentemente ligado a los cambios de temperatura (Dreier, 1977, en McMAHON, 1983; MORTON, 1977a; ALDRIDGE Y McMAHON, 1978; FUZIWARA, 1979; ENG, 1979; BRITTON *et al.*, 1979; Dreier y Tranquilli, 1981, en McMAHON, 1983; BRITTON Y MORTON, 1986).

## DESARROLLO LARVARIO

Los estudios realizados sobre la morfología de las fases larvarias de *C. fluminea* se deben a KRAEMER Y GALLOWAY (1986) y a KING *et al.* (1986). Más recientemente, KORNIUSHIN Y GLAUBRECHT (2003) publican un detallado estudio basado en técnicas histológicas y de microscopía electrónica de barrido (M.E.B) sobre la morfología larvaria y modo de incubación de cinco especies de *Corbicula* procedentes de dos islas de Indonesia.

En estos trabajos se describe la morfología externa y la duración de los estadios incubados en las demibranquias internas (embriones y larvas velígeras y pedivelígeras) así como la del juvenil de charnela recta (que representa el estado de liberación).

## CRECIMIENTO Y DINÁMICA POBLACIONAL

La estima de la edad y duración de la vida de *Corbicula* ha sido evaluada de diversas maneras. Los primeros trabajos sobre este tema se basaron en medidas de bandas o anillos de la concha (SINCLAIR E ISOM, 1963; Gardner *et al.*, 1976, en BRITTON *et al.*, 1979), aunque algunos autores no consideran válidas estas medidas. Según ellos (HEARD, 1964; ALDRIDGE Y McMAHON, 1978; Dudgeon, 1980, en McMAHON, 1983), el patrón de bandas y anillos, en ocasiones, es altamente variable y en muchos individuos ni siquiera se diferencian claramente los anillos. Además, los resultados de estos trabajos ofrecen un crecimiento lineal de los individuos a lo largo de su vida.

Gran parte de los trabajos sobre el crecimiento de *Corbicula* están basados en muestreos repetitivos durante un periodo reproductivo (un año o superiores) o un ciclo de vida (MORTON, 1977a; ALDRIDGE Y McMAHON, 1978; SICKEL, 1979; ENG, 1979; ITUARTE, 1985; BRITTON Y MORTON, 1986; WILLIAMS Y McMAHON, 1986; DARRIGRAN Y MAROÑAS, 1989; FRENCH Y SCHLOESSER, 1991; STITES *et al.*, 1994). Para la estima del índice de crecimiento (diario, mensual o anual) se han realizado estudios marcando individuos y manteniéndolos en jaulas en su medio natural (BRITTON *et al.*, 1979; BUTTNER Y HEIDINGER, 1980; WELCH Y JOY, 1984; JOY, 1985; MATTICE Y WRIGHT, 1986; McMAHON Y WILLIAMS, 1986; BELANGER *et al.*, 1990, TAN TIU Y PREZANT, 1992).

Estos trabajos demuestran que el crecimiento de esta especie es exponencial, de modo que, durante su primer año de vida, el individuo crece muy rápidamente, con índices de crecimiento de 14 mm a 33 mm, ralentizándose el crecimiento a medida que su edad avanza.

Para el estudio de la dinámica de poblaciones de *Corbicula* se ha utilizado de manera habitual, el modelo de Von Bertalanffy (MORTON, 1977a; ITUARTE, 1985; DARRIGRAN Y MAROÑAS, 1989) obteniendo resultados para el periodo de vida que oscilan desde los 1,5 años hasta los 4 años (HEINSOHN, 1958; MORTON, 1977a, ENG, 1979; ALDRIDGE Y MCMAHON, 1978; SICKEL, 1979; ITUARTE, 1985; MCMAHON Y WILLIAMS, 1986; WILLIAMS Y MCMAHON, 1986).

Hay trabajos que demuestran que el crecimiento disminuye o cesa a bajas temperaturas (ALDRIDGE Y MCMAHON, 1978; ENG, 1979; BUTTNER Y HEIDINGER, 1980; HALL, 1984; ITUARTE, 1985; JOY, 1985; WELCH Y JOY, 1985; BRITTON Y MORTON, 1986; MATTICE Y WRIGHT, 1986; MCMAHON Y WILLIAMS, 1986; FRENCH Y SCHLOESSER, 1991; STITES *et al.*, 1991). Sin embargo, TAN TIU Y PREZANT (1992) afirman que el índice de crecimiento es mayor en las estaciones frías. En la bibliografía se encuentran referencias a factores que pueden afectar negativamente al crecimiento, como el inicio de la reproducción (MORTON, 1977a; ITUARTE, 1985; JOY, 1985; MATTICE Y WRIGHT, 1986), la falta de alimento, una baja disponibilidad de oxígeno, la disminución en la concentración de calcio, etc. (MORTON, 1977a; SICKEL, 1976; ITUARTE, 1985, MCMAHON Y WILLIAMS, 1986; WILLIAMS Y MCMAHON, 1986; BELANGER *et al.*, 1990; STITES *et al.*, 1994).

## ADAPTACIONES FISIOLÓGICAS

En contra de lo que se puede suponer por ser una especie invasora, *C. fluminea* está pobremente adaptada a condiciones ambientales desfavorables. *C. fluminea* es intolerante a condiciones de hipoxia moderada. En general, mucho menos tolerante que el resto de Uniónidos y Esféricos (MCMAHON, 1991). Sus poblaciones normalmente se encuentran restringidas a zonas de corrientes rápidas y bien oxigenadas. Se encuentra en agua dulce y ocasionalmente en las franjas más altas de zonas de estuarios con salinidades que no superan el 5% (HEINSOHN, 1958; DÍAZ, 1974; MCMAHON, 2000). Igualmente presenta una reducida tolerancia térmica, su rango se encuentra entre los 2°C y los 36°C. A temperaturas inferiores a 2°C muere (MCMAHON, 1983) y sus niveles de filtración se inhiben por encima de 30°C (MCMAHON, 2000). En contraste nuevamente con Uniónidos y Esféricos, *C. fluminea* está poco adaptada a condiciones de emersión; puede sobrevivir 26 días en ambientes húmedos y 13 días en ambientes secos a 20°C, supervivencia que se reduce a 8 y a 6 días con temperaturas de 30°C (MCMAHON, 1979).

## PROBLEMAS, UTILIDAD POTENCIAL Y CONTROL DE LOS BIVALVOS INVASORES

*Corbicula fluminea* en Norteamérica está considerada como una de las plagas más importantes de moluscos acuáticos introducidos. Las características biológicas de la especie asociadas con este enorme potencial invasor se refieren a su alta fecundidad y velocidad de

crecimiento que, unido a su estado juvenil libre, le proporciona una gran capacidad de dispersión (McMAHON, 1983).

Desde el punto de vista económico, algunos de los principales problemas que esta especie ha causado en los hábitats que ha invadido son:

- Las grandes acumulaciones de ejemplares y valvas en circuitos de agua de consumo industrial y/o doméstico producen una reducción de la luz de las tuberías y de la velocidad del flujo en su interior y en ocasiones, su colapso. En Norteamérica las grandes poblaciones de bivalvos encontradas en algunos ríos, han llegado a bloquear los condensadores de las centrales de energía eléctrica (ISOM, 1986). Por otro lado, la acumulación de valvas vacías y detritus en los depósitos de agua ha provocado la contaminación del agua de los mismos (McMAHON, 1983).
- La acumulación de grandes cantidades de valvas en los lechos de los ríos, provoca que las extracciones del material natural para la construcción (arena, grava), tengan menos solidez, lo que reduce la calidad y resistencia del hormigón (McMAHON, 1983).

Desde el punto de vista ecológico, hay numerosos estudios que indican el impacto negativo de esta especie invasora sobre las poblaciones de bivalvos autóctonos (GARDNER *et al.*, 1976; CLARKE, 1981; VEITEINHEIMER-MENDES, 1981; ARAUJO *et al.*, 1993); aunque otros autores consideran que la presencia de *C. fluminea* no resulta perjudicial (ISOM, 1974; KRAEMER, 1981; BELANGER *et al.*, 1990; MILLER *et al.*, 1994).

También se han citado aplicaciones positivas derivadas de la presencia de esta especie, tales como la aceleración del reciclado de nutrientes en el medio (CORREA *et al.*, 1992), su posible utilidad como alimento tanto de humanos como de animales, como cebo para peces (SINCLAIR E ISOM, 1963; ISOM, 1986), como filtro biológico de estanques de peces (BUTTNER, 1986), como bioindicador béntico de metales pesados (FOE Y KNIGHT, 1986) o como material de experimentación de la clase Bivalvia en los laboratorios de Institutos y escuelas. En este último caso, reemplazarían a los ejemplares de Uniónidos, que suelen ser más escasos (BRITTON Y MORTON, 1982), presentan una velocidad de crecimiento lenta y un ciclo de vida complejo, además del hecho de que la mayoría de estas especies están amenazadas de extinción.

Para el control de las plagas de moluscos y de *Corbicula* en particular, se han aplicado diferentes métodos: colocación de filtros, descargas eléctricas, cloración del agua, venenos como el meta-bisulfito sódico (SMITHSON, 1986), o el TBTF (MUSSALLI, 1986), electromagnetismo, altas temperaturas, ultrasonido (GOSS Y CAIN, 1977; MORTON, 1977a; MACPHEE, 1986), etc. Todo ello supone un elevado coste económico y, en muchos casos, toxicidad residual, añadida al impacto directo de la aplicación de estas técnicas sobre la fauna autóctona, por lo que se pone en peligro el equilibrio del ecosistema. En muchos casos se ha recurrido a un control mecánico, químico y biológico (MATTICE, 1983). En Norteamérica, el sistema más utilizado ha sido la cloración del agua, bien durante todo el año (WILLIAMS Y McMAHON, 1986) o bien en determinados momentos del ciclo sexual de *C. fluminea* (GOSS Y CAIN, 1977; CHERRY *et al.*, 1986), junto con la colocación de filtros con diferentes luces de malla (ISOM *et*

*al.*, 1986; MUSSALLI, 1986). Alguno de estos estudios indica que no existe una acción negativa de estas actuaciones sobre las demás comunidades de invertebrados bentónicos (CHERRY *et al.*, 1986).

Otro de los sistemas a los que se ha recurrido frecuentemente ha sido al uso de maquinaria que retira dragando los ejemplares de una manera rutinaria o selectiva (en las épocas de incubación larvaria o reclutamiento de juveniles), acción que se combina con la colocación de filtros en las épocas de liberación larvaria.

En todo caso es muy recomendable el diseño de medidas preventivas antes y durante la construcción de las instalaciones que puedan verse contaminadas por la especie (ISOM *et al.*, 1986).



# **OBJETIVOS**



Dados los diferentes criterios en la definición de *Corbicula fluminea* y, en general, de todas las especies del género *Corbicula* antes expuestos, es preciso aclarar que en esta memoria se considera la especie *C. fluminea* tal como se define en la revisión taxonómica de ARAUJO *et al.* (1993). En dicho trabajo se concluye que las primeras poblaciones encontradas en el Miño pertenecen a *C. fluminea*. El estudio se basó en la morfología de la concha, características anatómicas y en la observación de juveniles incubados en las demibránquias internas, característica reproductora que la diferencia básicamente de *C. fluminalis*.

Por tanto, conociendo el potencial dispersivo de *C. fluminea* y los problemas que su elevada presencia acarrea, tanto desde un punto de vista de impacto biológico/ecológico (posible desequilibrio de los ecosistemas en los que se introduce, contaminación del agua, etc.), como económico, consideramos necesario conocer concretamente el ciclo de vida, así como, la estructura y evolución poblacional de esta especie en el río Miño. Esta información básica es imprescindible para el diseño de medidas paliativas de los posibles problemas que pudieran ocasionar las enormes densidades poblacionales ya observadas en el Miño.

A continuación y de forma detallada, se enumeran los principales objetivos de este trabajo:

- 1- Esclarecer el ciclo sexual y la estrategia reproductora de *Corbicula fluminea* en el río Miño.
- 2- Conocer la estructura poblacional, el ciclo de vida y el ritmo de crecimiento de la especie a lo largo del año.
- 3- Describir la anatomía y morfología de la gónada así como su desarrollo, diferenciación sexual y maduración.
- 4- Conocer si se produce el fenómeno de incubación larvaria y, si es así, conocer el o los periodos de incubación.
- 5- Describir el desarrollo, morfología y transformación de las diferentes fases larvarias.
- 6- Determinar la fase de liberación de larvas y/o juveniles, describiendo su anatomía, morfología y tamaño.
- 7- Conocer los meses de reclutamiento de los juveniles.
- 8- Conocer los parámetros del agua y establecer su posible efecto sobre la reproducción y la estructura poblacional.
- 9- Dejar constancia de la biología de *Corbicula fluminea* en el río Miño para facilitar el establecimiento de los sistemas de control adecuados en base a la reproducción y dinámica poblacional de esta especie invasora.



# **MATERIAL Y** **MÉTODOS**



## ÁREA DE ESTUDIO

Para la realización de este estudio se ha elegido una estación del tramo bajo del río Miño, denominada Río Miño Playa (fig. 1), donde se conocía la existencia de una población de *Corbicula fluminea*. La estación se encuentra en la Barriada de Páramos dentro del Concello de Tui (Pontevedra). Se trata de una playa areno-fangosa ubicada en una zona de mareas y rodeada de árboles y vegetación de herbáceas (fig. 2). En la playa existe un pantalán que parte de la orilla.

El muestreo duró dos años y se realizaron 36 capturas. Desde abril de 1994 a septiembre de 1994 se hizo un muestreo mensual y, a partir de octubre de 1994, y hasta abril de 1996, los muestreos se hicieron con carácter quincenal (tabla 1).



**Fig. 1:** Mapa de la Península Ibérica y del tramo bajo de río Miño. El asterisco marcado representa la estación estudiada, "Río Miño Playa".

## TÉCNICA DE MUESTREO Y PREPARACIÓN DE LAS MUESTRAS

Se realizó un muestreo cuantitativo de bentos litoral. Para la recogida de las muestras se utilizó una draga de arrastre a la que iba unida una cuerda de 30 m (fig. 3A). En marea baja, la draga se lanzaba desde la playa a nivel del agua mientras que en marea alta, la draga se lanzaba desde el pantalán. Una vez recogida la draga, su contenido se depositaba en una bandeja profunda y el material se pasaba por una escala de tamices de luz de malla de 4, 2 y 0,125 mm. Además, se seleccionaba una parte de la fracción fina recogida por el tamiz de menor luz y se transportaba en una bolsa de plástico con agua del río y en nevera hasta el laboratorio, donde se separaban los ejemplares juveniles más pequeños bajo un estereomicroscopio binocular. En cada muestreo se recogían todos los ejemplares de *Corbicula fluminea* capturados en la draga hasta completar un mínimo de 200 ejemplares (sin contar los ejemplares de la fracción fina).



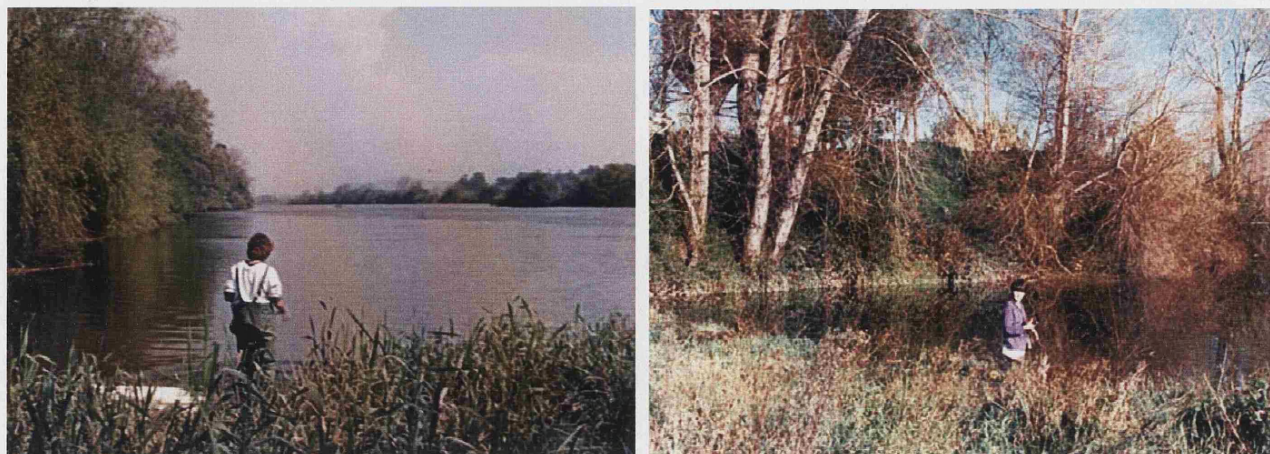


Fig. 2: Estación "Río Miño Playa".

Durante los primeros meses (abril-julio de 1994) los individuos se transportaron vivos (en botes de plástico rellenos con agua del río), en una nevera con hielo hasta el laboratorio en donde se fijaban en etanol al 70%. Se comprobó entonces que era más operativo clasificar y fijar "in situ" los ejemplares en función de los diferentes estudios a los que estaban destinados, por lo que a partir de agosto de 1994 y hasta el final de los muestreos, los ejemplares se procesaron del siguiente modo:

- 1 Los animales destinados a cortes histológicos eran clasificados por tamaños y fijados en formol salino al 10% o en fijador de Bouin.
- 2 Para determinar los meses de fecundación y gravidez y estudiar las distintas fases larvares, se llevó a cabo un estudio que hemos denominado **"experimento de fecundación y desarrollo larvario"**.

Tabla 1: Relación de las fechas correspondientes a cada captura.

Captura N°	Fecha	Captura N°	Fecha
1	20/4/94	19	3/5/95
2	18/5/94	20	20/5/95
3	20/6/94	21	7/6/95
4	27/7/94	22	22/6/95
5	18/8/94	23	11/7/95
6	21/9/94	24	1/8/95
7	4/10/94	25	17/8/95
8	23/10/94	26	12/9/95
9	7/11/94	27	2/10/95
10	22/11/94	28	16/10/95
11	13/12/94	29	6/11/95
12	27/12/94	30	23/11/95
13	24/1/95	31	12/12/95
14	2/2/95	32	5/2/96
15	22/2/95	33	22/2/96
16	15/3/95	34	11/3/96
17	4/4/95	35	26/3/96
18	19/4/95	36	16/4/96



Se desarrolló entre agosto de 1994 y septiembre de 1995 y constó de 21 muestreos (incluidos en los 36 muestreos del estudio global). Se escogieron un total de 197 ejemplares (que integran tamaños desde 8 mm de longitud hasta ejemplares de 31 mm). En cada muestreo se eligieron 10 ejemplares dentro del rango de longitud mencionado, cada uno se introdujo vivo en un recipiente, los ejemplares más grandes en recipientes de 50 ml y de 10 ml de capacidad los ejemplares más pequeños. Los recipientes se rellenaron con agua del río y se transportaron en una nevera con hielo hasta el laboratorio. Bajo la lupa se analizó el agua de los distintos recipientes para observar la presencia de larvas y/o embriones en ella, se separaron las branquias del cuerpo del animal y se diseccionaron en una placa petri, para detectar la presencia/ausencia de larvas, así como la fase en la que se encontraban.

- 3 El resto de los ejemplares recogidos se fijaron y conservaron en etanol al 70% y posteriormente se utilizaron para el estudio de anatomía y dinámica poblacional.

## PARÁMETROS FÍSICO-QUÍMICOS

### Registro de medidas

En cada muestreo se registraron los siguientes parámetros físico-químicos del agua: temperatura, pH, oxígeno disuelto (medido en mg/l y en %), conductividad (a 25°C y a la temperatura del agua), calcio, alcalinidad, dureza de carbonatos y dureza total.

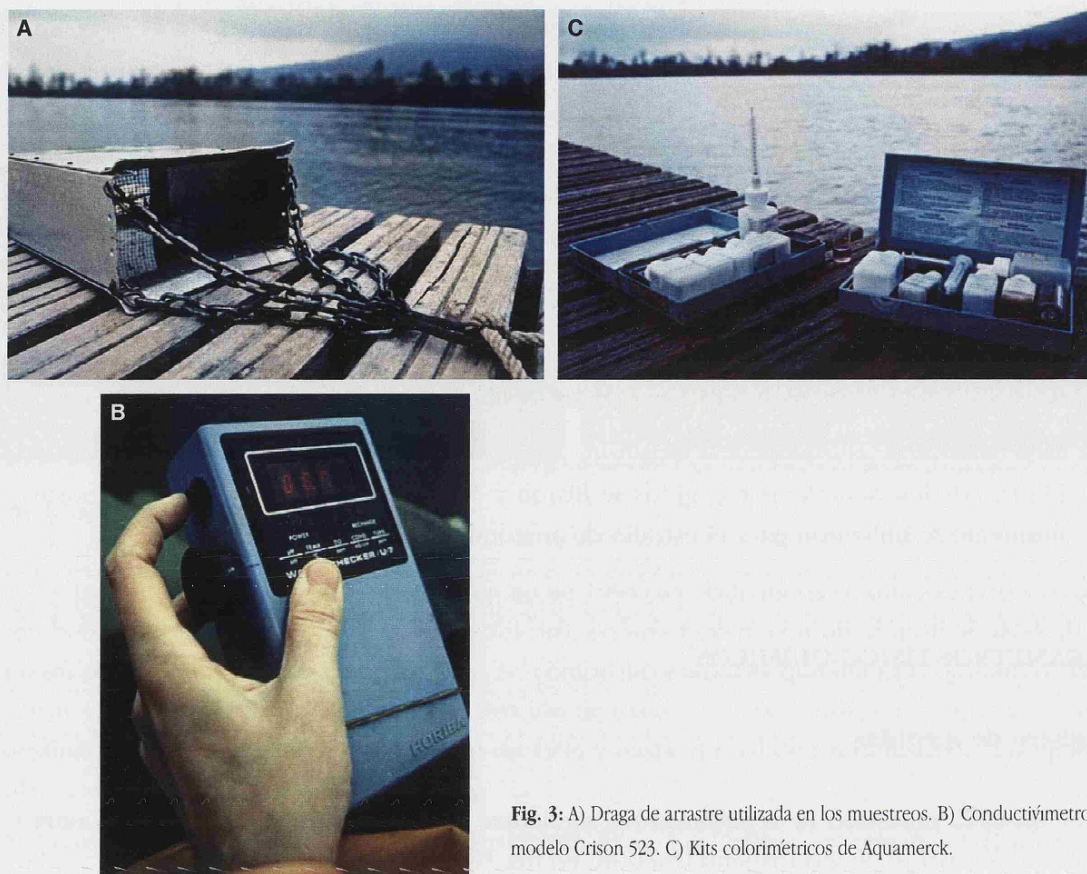
Para la toma de la temperatura se utilizó una sonda portátil Ysi modelo 55 ( $\pm 0,4^{\circ}\text{C}$ ) excepto los meses de abril de 1994 que se utilizó una sonda Horiba modelo U7 ( $T^{\circ} \pm 0,5^{\circ}\text{C}$ ), y durante los meses de mayo y junio de 1994 que se usó un oxímetro Crison modelo 92.

Para la medida de pH se utilizó un pHímetro Hanna modelo 8314. De abril a junio de 1994 se utilizó una sonda Horiba modelo U7 ( $\pm 0,1$  pH). En junio de 1995 y en marzo de 1996 se utilizó un pHímetro pH modelo ep2.

Para la toma de datos de oxígeno disuelto en agua, medido en porcentaje ( $\pm 2\%$  de saturación de aire) y en mg/l ( $\pm 0,3$  mg/l) se utilizó una sonda portátil Ysi modelo 55. En el mes de abril se registró con una sonda Horiba modelo U7 ( $\pm 1,0$  ppm) y en mayo y en junio de 1994 se utilizó un oxímetro Crison modelo 92 (mg/l) (fig. 3B).

La medida de conductividad se registró con un conductímetro Crison modelo 523 ( $\mu\text{s} \pm 0,3\%$ ) mientras que para la obtención de las medidas de calcio (mg/l), alcalinidad (mmol/l), dureza de carbonatos ( $^{\circ}\text{dh}$ ) y dureza total ( $^{\circ}\text{dh}$ ) se utilizaron Kits colorimétricos Merck de Aquamerck (fig. 3C).

Durante la segunda quincena de diciembre de 1995 y enero de 1996 no se pudo acceder al punto de muestreo debido a que las fuertes lluvias habían producido grandes crecidas inundando todo el área de muestreo, por lo que no se tomaron las medidas físico-químicas.



**Fig. 3:** A) Draga de arrastre utilizada en los muestreos. B) Conductímetro modelo Crison 523. C) Kits colorimétricos de Aquamerck.

### Tratamiento estadístico

Para conocer la influencia de los parámetros físico-químicos del agua en el medio y sobre la gravidez de *C. fluminea*, se realizó un Análisis de Componentes Principales y un Análisis Discriminante (ambos se efectuaron con el programa Statistica 4.1). El estudio se llevó cabo en 21 capturas del periodo comprendido de marzo de 1995 a abril de 1996. En cada captura se diseccionó un lote de diez bivalvos adultos (longitud valvas  $\geq 12$  mm) con el fin de determinar la presencia/ausencia de gravidez en la captura. Se consideró que la observación de una almeja con embriones en branquia determinaba presencia de gravidez en la captura ("Gravidez SÍ"). "Gravidez NO" indica que ningún ejemplar está grávido.

### ANATOMÍA

#### Disecciones

Para el estudio anatómico de *Corbicula fluminea* se realizaron disecciones de los ejemplares conservados en etanol al 70%. Dado que se había observado que con la fijación

en etanol se abrían las valvas del animal y el cuerpo se separaba fácilmente de la concha, no fue necesario anestesiar previamente los ejemplares. Los ejemplares se colocaban sobre una placa petri con fondo de parafina, cera y carbón activo, se sujetaban con minucias por la zona del pie al fondo de la placa petri y por medio de pinzas y tijeras de microdissección se procedía a estudiar los diferentes órganos. En ocasiones se emplearon tinciones diferenciales: rojo neutro para anatomía general y Bouin para el sistema nervioso.

## Histología

Para el estudio más detallado del conjunto de los órganos de la masa visceral además se realizaron cortes histológicos de 87 ejemplares (ver método a continuación).

## CICLO SEXUAL

### Histología

En cada muestreo se seleccionó una muestra de 6 a 8 ejemplares, que integraban prácticamente todos los tamaños (normalmente a partir de 7-8 mm), destinada al estudio histológico de gónada y branquias. Se han realizado cortes histológicos de gónada de 87 ejemplares, 34 son individuos menores de 14 mm y los 55 restantes mayores de 14 mm (tabla 2).

### FIJACIÓN Y CONSERVACIÓN

En el campo se secciona el músculo aductor de los ejemplares con un bisturí y se fijan en formol salino al 10%. Debido a que la fijación obtenida no era del todo satisfactoria, se

**Tabla 2:** Ejemplares en los que se han realizado cortes histológicos.

Mes/Longitud en mm.	1	2	3	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	>23
Septiembre												2	1				2			1	
Octubre								1	1							1	1				
Noviembre								1		1	1		1			1		1	1	1	
Dic. (13/12/94)						1				1					1				1		
Dic. (27/12/94)	2											1				1		2			
Enero		2							1			1	1								
Febrero							1				1					2	1			1	1
Marzo							1				1		1		1	1			1		1
Abril										1		1			1	1				1	1
Mayo					1		1				1			1	1		1			1	
Junio			1			1	1				1		1			1		1			1
Julio					1			1		1				1		1			1		
Ago. (1/08/95)				1		1			1								1			1	
Ago. (17/08/95)										1			1		1						
Sept.					1			1		1			1		1				1		1

decidió utilizar fijador de Bouin a partir de septiembre de 1994. La fijación dependía del tamaño de los ejemplares (realizando fijaciones de 8, 24 y 30 horas). Una vez fijados los individuos, se separaron las conchas y los cuerpos, que eran aclarados sucesivas veces en etanol al 70% con el fin de eliminar los restos de ácido pícrico que pudiera quedar. Los ejemplares se conservaron en etanol al 70%.

Los ejemplares más pequeños (1-3 mm) se fijaban en solución de Bouin durante 5-6 horas y posteriormente se sumergieron durante 3 días aproximadamente en E.D.T.A. (para eliminar el carbonato cálcico de la concha). Posteriormente también se aclararon con etanol.

#### PROTOCOLO DE HISTOLOGÍA

Tras diferentes ensayos, se seleccionó el siguiente proceso de deshidratación progresiva: las muestras se sumergen en etanol al 80% durante 30 minutos; posteriormente se pasan a etanol al 90% durante otros 30 minutos; en etanol al 95% están durante dos horas, cambiando el alcohol a la hora y posteriormente se pasan a alcohol absoluto (100%) donde permanecen dos horas, cambiando el alcohol a la hora. A continuación se introducen en Bencilbenzoato (disolvente orgánico que favorece la salida del alcohol del cuerpo del animal para que en el paso siguiente pueda penetrar el paraplast más fácilmente) durante un tiempo variable (2-24 h), cambiando al menos una vez el disolvente. Una vez que la muestra se ha embebido de bencilbenzoato (momento en que el animal cae al fondo del recipiente), los ejemplares son aclarados con sucesivos baños en paraplast caliente, proceso que se favorece gracias a la suave agitación de los animales. Una vez eliminados los últimos restos de bencilbenzoato, los individuos transcurren un tiempo variable (un día en los prime-

#### **Hematoxilina de Carazzi-Eosina:**

- Xilol I: 5 minutos
- Xilol II: 5 minutos
- Xilol-Alcohol Etílico 100%(1:1): 15-20 segundos.
- Alcohol Etílico 100%: 15-20 s.
- Alcohol Etílico 90%: 15-20 s.
- Alcohol Etílico 70%: 15-20 s.
- Agua destilada I: aclarado
- Agua destilada II: aclarado
- Hematoxilina de Carazzi: 4 minutos
- Agua corriente: aclarado
- Eosina: 5 segundos los ejemplares L> 14 mm y 10-20 s. los ejemplares L< 14 mm.
- Agua corriente: aclarado
- Alcohol Etílico 40%: 5-10 s.
- Alcohol Etílico 70%: 5-10 s.
- Alcohol Etílico 90%: 5-10 s.
- Alcohol Etílico 95%: 10 s.
- Alcohol Etílico 100%: 15-20 s.
- Alcohol Etílico 100% II: 15-20 s.
- Alcohol Etílico 100%-Xilol (1:1): 15-20 s.
- Xilol I: 5 minutos
- Xilol II: 5 minutos

#### **Tinción de Azán de Heidenhain:**

- Xilol I: 5 minutos
- Xilol II: 5 minutos
- Xilol-Alcohol Etílico 100% (1:1): 1-2 minutos
- Alcohol Etílico 100%: 1-2 minutos
- Alcohol Etílico 100%: 1-2 minutos
- Alcohol Etílico 95%: 1-2 minutos
- Alcohol Etílico 95%: 1-2 minutos
- Alcohol Etílico 70%: 1-2 minutos
- Alcohol Etílico 40%: 1-2 minutos
- Agua destilada I: aclarado
- Agua destilada II: aclarado
- Reactivo II: 5 m para ejemplares con L>14 mm, 10 m para ejemplares con L < 14 mm
- Agua destilada: aclarado
- Acido Fosfowolfrámico: 5 minutos
- Agua destilada: aclarado
- Reactivo IV: 5 m para ejemplares con L>14 mm, 8 m para ejemplares con L < 14 mm
- Alcohol Etílico 95%: aclarado (15-20 segundos)
- Alcohol Etílico 100%: aclarado (15-20 segundos)
- Alcohol Etílico 100% II: aclarado (15-20 segundos).
- Alcohol Etílico 100%-Xilol (1:1): 15-20 segundos).
- Xilol I: 3 minutos
- Xilol II: 5 minutos

ros intentos, hasta 5-6 días posteriormente) embebidos en paraplast caliente dentro de una estufa a una temperatura de 58°C.

Después de tallar adecuadamente los bloques de paraplast se hicieron cortes seriados con un micrótomo Leitz modelo 1512 con grosores entre 10 y 7  $\mu\text{m}$ , siendo los cortes de 7  $\mu\text{m}$  los más frecuentes.

Los cortes se realizaron en tres orientaciones: eje antero-posterior con sentido dorso-ventral (corte longitudinal dorso-ventral), eje antero-posterior con sentido izquierda-derecha (corte longitudinal-frontal), y en el eje dorso-ventral con sentido postero-anterior (corte transversal postero-anterior). Se ha escogido con más frecuencia la primera orientación descrita por ser la que más información ofrece por corte.

Las tinciones utilizadas han sido Hematoxilina de Carazzi-Eosina y Azán de Heidenhain. En cada ejemplar, y de manera sistemática, se alternaba cada tinción.

El protocolo de tinción utilizado se describe en el cuadro resumen del final de la página anterior.

Seguidamente se montaba un cubreobjetos pegándolo con DPX Mountain y las preparaciones se dejaban secar, se limpiaban y se etiquetaban adecuadamente. La observación de las preparaciones se realizó con un microscopio Zeiss con oculares de 10x y con objetivos de 2,5x, 10x, 16x, 25x, 40x, 63x y 100x (inmersión). Para la obtención de imágenes rápidas de trabajo se utilizó un videoprinter conectado a un monitor Sony y una cámara de vídeo Cannon. Las fotografías se realizaron con filtro azul en un fotomicroscopio Carl-Zeiss, se utilizaron los mismos objetivos y el carrete de diapositivas era luz día de 100 asa de sensibilidad.

### **Frotis de folículos masculinos**

Para el estudio del ciclo sexual masculino se realizaron preparaciones microscópicas de folículos masculinos, que hemos denominado frotis de folículos masculinos, que sirvieron de apoyo en el análisis histológico gonadal. En los frotis se determina la presencia/ausencia de espermatozoides en los folículos masculinos o hermafroditas y, en función de la cantidad de haces de espermatozoides encontrada, se establece si el ejemplar tiene la fracción masculina en estado maduro y es por tanto un "fecundador potencial". Con estos resultados se determina la proporción de "fecundadores potenciales" cada mes y a lo largo de todo el ciclo anual.

Se realizaron frotis de 203 ejemplares, preservados en etanol a 70% y procedentes de las capturas de septiembre de 1994 a septiembre de 1995 (tabla 3). De ellos, 169 fueron de individuos mayores de 18 mm (de todos los meses del año estudiado) y 34 de individuos con longitudes entre 7 y 13 mm (generalmente inmaduros) y correspondientes a los meses de octubre de 1994 y febrero, mayo y julio de 1995.

#### **TÉCNICA DEL FROTIS**

Para la obtención del frotis se cortan los músculos aductores con un bisturí y el animal se separa de las valvas, se coloca sobre una placa petri con fondo de parafina y carbón

**Tabla 3:** Número de ejemplares en los que realizaron frotis de gónada masculina.

Mes/Longitud en mm.	7	8	9	10	11	12	13	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	
Septiembre.								1	3	2	1	1		1	2			1				12
Octubre.			2	2	2	2	2	2	5	5				1				1				24
Noviembre.								1	3	3	1				2	1		1				12
Dic. (13/12/94)									3	1		2	1		1		3					2
Dic. (27/12/94)										5	2	1	1	1	1		1					12
Enero.																						
Feb. (2/02/95)									1	1	3	3			1	1			1		1	12
Feb. (22/02/95)	1		2	2	1	1	1	2	3				3	2	2							20
Marzo.								1	2	2	3	2	1			1						12
Abril.								1	3	2		1	1	1	1	1			1			12
Mayo.				3	2	2	1		1	1	3	4	2	1								20
Junio.									1		3	3	3		1		1					12
Julio.			1	2	3	1	1	1		1	1	2	3	3	1							20
Ago. (1/08/95)																						
Ago. (17/08/95)											3	2	1	1	1	2	1	1				12
Septiembre.										1		2	2	2	1		1	1	1	1		12
Total	1		5	8	9	6	5	9	25	24	20	23	18	16	12	5	7	5	3	1	1	203

activo y se sujeta con minucias por el pie. Con pinzas y un bisturí se separa el manto, el pericardio, los riñones y se retira con cuidado el epitelio que recubre la masa visceral. Con ayuda de pinzas y/o cortando pequeños folículos masculinos se toman muestras procedentes de diferentes puntos de la gónada que se colocan en un portaobjetos con una gota de etanol al 70%. Se coloca el cubreobjetos y se aplasta con cuidado con las pinzas, con el fin de disminuir el grosor de los folículos sin romperlos para poder observarlos por transparencia al microscopio. Es mejor observar los folículos enteros o semienteros porque de esta forma se aprecian los haces de espermatozoides ordenados así como el resto de las células de la línea sexual masculina. A su vez, las branquias de estos ejemplares fueron diseccionadas con el fin de observar el estado de gravidez de los mismos. De esta forma se obtiene información complementaria sobre los meses en los que ocurre la fecundación y el desarrollo larvario.

## **FASES LARVIARIAS**

Para el estudio del desarrollo embrionario se utilizaron técnicas de microscopía óptica y electrónica de barrido.

### **Microscopía electrónica de barrido (M.E.B.)**

#### **SELECCIÓN DE LOS EJEMPLARES**

Se seleccionaron las larvas de los ejemplares grávidos procedentes del "experimento de fecundación y desarrollo larvario" de las capturas de los meses de julio, agosto y septiembre de 1994. Cuando las larvas se encontraban libres en el agua, fuera de las branquias, su clasificación y limpieza solía ser más fácil que cuando estaban todavía adheridas a las branquias.

#### **FIJACIÓN Y DESHIDRATACIÓN**

Una vez seleccionadas las larvas vivas, se fijaron en solución de glutaraldehído al 2% en tampón fosfato y agua de río durante 24 horas a 4°C. Transcurrido este tiempo, se lavó la muestra varias veces con agua de río para eliminar completamente los restos que pudieran quedar de fijador y evitar posibles choques osmóticos que pudiesen deformar o alterar los tejidos. Posteriormente se procedió a la deshidratación de la muestra en una serie alcohólica (etanol al 5%, 10%, 20%, 30%, 50% y 70%) manteniendo las larvas 20 minutos en cada solución. En etanol al 70% las muestras se pueden mantener por tiempo indefinido.

Posteriormente se llevó a cabo una deshidratación total en una serie de etanol al 80%, 90% y 100%, manteniendo los ejemplares durante 10 minutos en cada solución alcohólica.

El siguiente paso fue transferir los ejemplares de etanol absoluto a acetona como fluido intermediario en el secado posterior por punto crítico.

#### SECADO POR PUNTO CRÍTICO

Para secar completamente los ejemplares se utilizó la técnica del secado por punto crítico (COHEN, 1974) utilizando CO<sub>2</sub> líquido como fluido de transición. Con esta técnica se consigue secar completamente la muestra evitando las deformaciones y las alteraciones que se producen en los tejidos a causa de la tensión superficial de los fluidos.

Para el secado por punto crítico se utilizó un aparato de Bio-Rad CPD E-2000.

#### MONTAJE Y METALIZACIÓN

Los ejemplares se montaron en portaobjetos de aluminio utilizando etiquetas de carbono adhesivas por las dos caras. Posteriormente se metalizaron con una capa de oro de 15 nm de espesor en un metalizador por sputter Bio-Rad SE 515 con "Peltier stage" para mantener la muestra a 4°C durante el proceso de metalización.

#### OBSERVACIÓN

Los ejemplares se observaron en un microscopio electrónico de barrido Phillips XL-20 a voltajes de aceleración que variaron entre 15 y 25 Kv.

### **Microscopía óptica: Histología**

Las fases larvarias se estudiaron en las branquias de ejemplares grávidos cortados enteros. Para ello, se seleccionaron los ejemplares grávidos, mantenidos vivos hasta su llegada al laboratorio, procedentes de los meses de julio, agosto y septiembre de 1994. Las branquias de estos últimos ejemplares, se separaron del cuerpo del animal con ayuda de pinzas de disección y, una vez anotadas las características del individuo del que procedían, las branquias se fijaron en fijador de Bouin durante 24 horas.

El protocolo de histología fue el mismo que el explicado anteriormente salvo que el grosor de corte de las branquias con embriones era de 5 µm. Se realizaron orientaciones de corte de branquias transversal y longitudinal.

### **CONCHAS JUVENILES**

#### **Microscopía electrónica de barrido**

Las conchas de los ejemplares juveniles de *C. fluminea* se estudiaron al MEB. (Aunque la mayoría de las muestras procedían de ejemplares vivos, algunas conchas pertenecen a ejemplares conservados en etanol al 70%).

Se retiró con cuidado el cuerpo del animal de la concha. Las valvas se introdujeron en etanol al 100% y, posteriormente, se dejaron secar a temperatura ambiente durante dos días. Una vez secas las valvas, se montaron sobre etiquetas de carbono activo de doble cara en



un portaobjetos de aluminio. El montaje se realizó bajo un estereomicroscopio binocular para colocar las valvas adecuadamente y poder observar su cara interna y externa. La metalización se realizó de la misma manera comentada previamente para las larvas.

Se realizaron medidas de la prodisoconcha I y la prodisoconcha II de 15 larvas pedivelígeras, de las que se calculó la media de la prodisoconcha I. Se midieron 5 juveniles con disoconcha de los que se calculó la media de la prodisoconcha II.

Se estudiaron las características de la cara interna de la concha, la evolución del umbo, la aparición del ligamento y la evolución de la charnela (aparición y evolución de los dientes laterales y cardinales).

## **DINÁMICA POBLACIONAL**

### **Morfometría**

Se midió la longitud (eje antero-posterior) de todos los ejemplares con un calibre manual modelo Mitutoyo. Se realizaron 36 muestreos (tabla 1) y se han medido un total de 9.705 ejemplares (en el Apéndice 1 se muestran todas las medidas de longitud de concha de los ejemplares capturados en cada muestreo). Dado que en el mes de mayo de 1994 no se pudieron coger ejemplares suficientes porque se rompió la draga no se dispone de datos de dicho mes.

### **Histogramas de crecimiento y cohortes generacionales**

En base a la medida de longitud de las valvas se establecieron clases de tamaño de 1 mm de amplitud creándose histogramas de crecimiento mensuales (durante los primeros meses) y quincenales (a partir de octubre de 1994). Los histogramas se han realizado utilizando el programa estadístico Statview and Graphics 4.1.

Se ha calculado la frecuencia de cada clase de tamaño en cada muestreo, obteniéndose la tabla de frecuencias que integra en clases de tamaño de 1 mm todos los ejemplares capturados y medidos en los dos años de muestreo. En base a la tabla de frecuencias se utilizó el método BHATTACHARYA (1967) incluido en el programa informático ELEFAN I. El método Bhattacharya sirve para identificar las cohortes que pueden coexistir en los distintos muestreos a lo largo del año, así como para calcular la curva normal ajustada a cada grupo generacional, validando cada una de las cohortes detectadas mediante una prueba  $\chi^2$ . De este modo se obtiene la tabla de cohortes con valores medios de cada cohorte en cada muestreo.

### **Homogeneización de los datos**

Se debe recurrir a homogeneizar determinados valores de la tabla de cohortes original por dos cuestiones:

- 1 Hay capturas con un fuerte predominio de la cohorte más pequeña existiendo una desproporción numérica entre el número de ejemplares pequeños y el resto de clases de tamaño. En esas capturas el método sólo ajusta el valor medio de la cohorte más pequeña y no permite establecer valores medios de las restantes cohortes. Para solucionar este problema se han establecido valores intermedios teóricos de las cohortes donde el método no permitía esclarecerlas.
- 2 Existen diferencias temporales en los muestreos, los seis primeros muestreos fueron mensuales y el resto quincenales y además no se tienen datos del segundo muestreo, por lo que tenemos que intercalar en estas primeras capturas valores intermedios de longitud de las cohortes correspondientes a capturas quincenales teóricas.

A continuación se detalla el proceso de homogeneización de los valores de la tabla de cohortes original:

- 1 El método no permite establecer valores medios de las cohortes mayores (C0, C1 y C2) en las capturas 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13 y 14. Para solucionarlo, se han comparado los valores medios de todas las cohortes en los muestreos números 6 y 15 (que representan las capturas anterior y posterior al problema mencionado) y se han establecido valores intermedios teóricos para cada captura (7 a 14).

La cohorte-1 presenta una longitud media en la captura 6 de 3,3 mm y en la captura 15 de 5,1 mm, la diferencia entre estos valores resuelve un crecimiento de la C-1 de 1,8 mm entre los dos puntos comparados (captura 6-captura 15). Como hay 8 capturas intermedias, se extrapola un crecimiento aproximado de 0,2 mm entre cada captura.

La cohorte 0 presenta un valor medio en la captura 6 de 11,2 mm y en la captura 15 de 12,7 mm, el crecimiento de la C0 sería de 1,5 mm entre estos dos puntos comparados extrapoliándose un crecimiento aproximado de 0,16 mm entre cada captura.

La cohorte 1 presenta una longitud media de 18,1 mm en la captura 6 y de 19,2 mm en la captura 15, el crecimiento de la cohorte sería de 1,1 mm entre los dos puntos comparados, y se extrapola un crecimiento aproximado de 0,12 mm entre cada captura.

La cohorte 2 presenta un valor medio de 24,7 mm en la captura 6 y de 25,3 mm en la captura 15. El crecimiento sería de 0,6 mm entre las dos capturas comparadas, y el crecimiento extrapolado es de 0,06 mm entre cada captura.

- 2 Se homogeneizan los seis primeros muestreos mensuales respecto a los restantes ya quincenales. En los primeros cinco muestreos se han introducido para cada cohorte valores de longitud intermedios correspondientes a muestreos quincenales teóricos, asumiendo que el valor de cada cohorte corresponde al valor intermedio de crecimiento entre la captura anterior y la siguiente. De este modo se establecen 3 nuevos valores intermedios entre las capturas 1 y 3 (ya que distan dos meses por no tener datos de la captura 2) y valores intermedios entre los muestreos 3-4, 4-5 y 5-6.

Ejemplo: en la captura 4 (julio 94) la C0 tiene una longitud media de 5,7 mm y en la captura 5 (agosto 94) presenta una media de 9,7 mm. El crecimiento resulta ser de 4

mm en un mes aproximadamente, la nueva tabla presenta un valor intermedio de 7,7 mm (2 mm de diferencia con cada extremo).

Estas modificaciones se integran a la primera tabla de cohortes configurándose la segunda y definitiva tabla de cohortes, que presenta valores representativos de capturas quincenales y es con la que se irá trabajando para obtener y discutir los resultados.

**ABREVIATURAS.** A continuación se relacionan por orden alfabético todas las abreviaturas utilizadas en las figuras.

**A:** aurícula  
**AD:** acinos digestivos  
**AN:** ano  
**B:** boca  
**BCA:** banda cilios adoral  
**BCP:** blastoporo  
**BP:** banda de cilios preoral  
**BR:** branquias  
**C:** concha  
**CB:** celoblastula  
**CBS:** células basura  
**CC:** campo de la concha  
**CCV:** conectivo cerebro-visceral  
**CF:** células foliculares  
**CG:** células germinales  
**CGB:** conducto de la glándula del biso  
**CI:** cámara infrabranquial  
**CL:** cilios  
**CS:** cámara suprabranquial  
**D:** disoconcha  
**DC:** dientes cardinales  
**DE:** demibranchia externa  
**DI:** demibranchia interna  
**DL:** dientes laterales  
**EIF:** embriones intrafoliculares  
**EIG:** embriones intragonoducto  
**ES:** esófago  
**ET:** estómago  
**FB:** filamentos branquiales  
**FF:** folículos femeninos  
**FFM:** fracción masculina  
**FG:** folículos gonadales  
**FH:** folículos hermafroditas  
**FM:** folículos masculinos  
**G:** gametos  
**GA:** gastrula  
**GB:** glándula del biso  
**GCP:** ganglios cerebro-pleurales  
**GD:** glándula digestiva  
**GN:** ganglio neuroma  
**GO:** gonoporo  
**GP:** ganglio pedio  
**GV:** ganglio visceral  
**H:** hemocitos  
**I:** intestino  
**ICC:** invaginación del campo de la concha  
**IM:** impresiones musculares  
**IMA:** impresión músculo aductor  
**IP:** intestino posterior  
**J:** juvenil "D"  
**L:** longitud  
**LA:** larvas  
**LF:** luz folicular  
**LG:** ligamento  
**LGO:** labios del gonoporo  
**LI:** lazos intestinales

**LM:** lobulos del manto  
**LP:** línea paleal  
**LPD:** larva pedivelígera  
**LT:** larva trocófora  
**LV:** larva velígera  
**M:** manto  
**MAA:** músculo aductor anterior  
**MAP:** músculo aductor posterior  
**MEB:** microscopio electrónico de barrido  
**MRP:** músculo retractor del pie  
**MRPA:** músculo retractor del pie anterior  
**MRV:** músculos retractores del velo  
**MV:** masa visceral  
**MVI:** masas de vitelo  
**OA:** órgano apical  
**OAN:** orificio anal  
**ORP:** orificios renopericárdicos  
**OV:** ovocito  
**OVG:** ovogonias  
**OVM:** ovocitos maduros  
**OVP:** ovocitos previtelogénicos  
**OVV:** ovocitos vitelogénicos  
**P:** pie  
**PA:** papilas  
**PBR:** primordio de branquias  
**PDI:** prodisoconcha I  
**PDII:** prodisoconcha II  
**PE:** periostraco  
**PL:** palpos labiales  
**PPA:** penacho post-anal  
**PPO:** penacho post-oral  
**PT:** prototroca  
**R:** recto  
**RG:** región del gonoducto  
**RI:** riñón  
**SE:** sifón exhalante  
**SI:** sifón inhalante  
**SPC:** espermatoцитos  
**SPCI:** espermatoцитos I  
**SPCII:** espermatoцитos II  
**SPG:** espermatogonia  
**SPT:** espermátida  
**SPZ:** espermatozoides  
**T:** tentáculos  
**T. A:** tinción de Azán  
**TC:** tejido conjuntivo  
**TCI:** tejido conectivo interlamelar  
**T. H-E:** tinción de hematoxilina-eosina  
**U:** umbo  
**V:** ventrículo  
**VL:** velo  
**VD:** valva derecha  
**VI:** valva izquierda  
**ZCC:** zona central ciliada  
**ZSF:** zona subfrontal no ciliada

# **RESULTADOS**



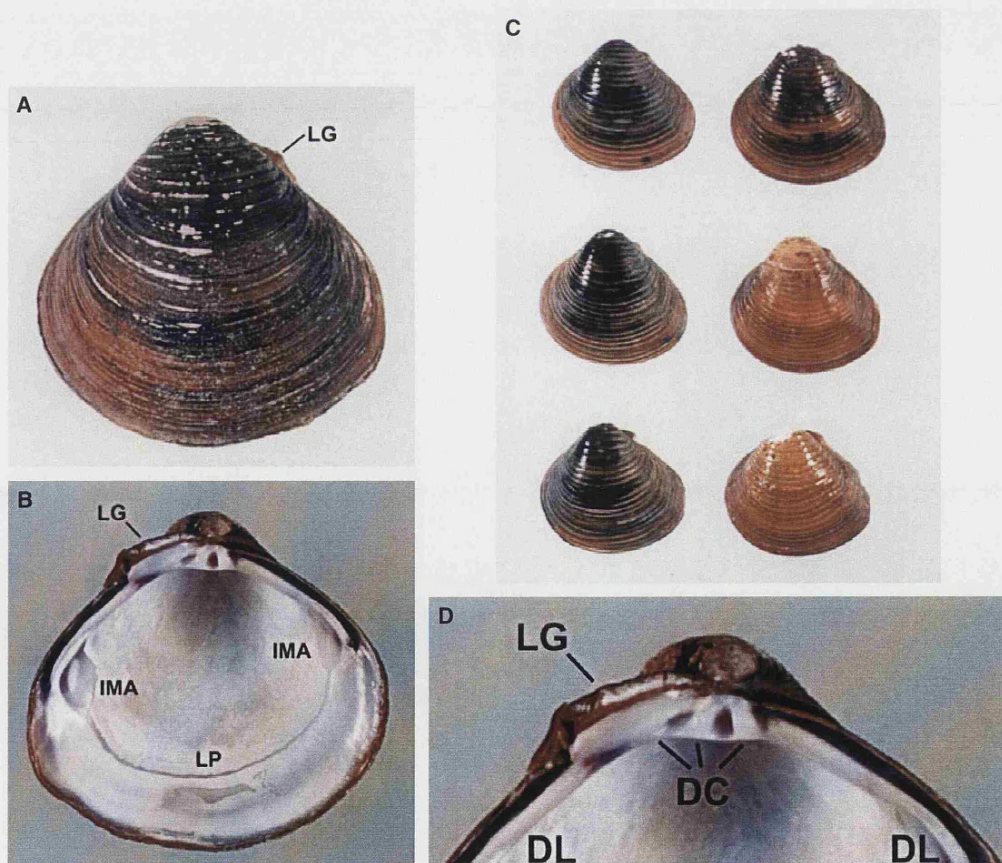
## 1- MORFOLOGÍA DE LA CONCHA

La concha de *Corbicula fluminea* se compone de dos valvas de igual forma y tamaño (equilateral), unidas dorsalmente por un ligamento externo y opistodético (fig. 4). La charnela consta de tres dientes cardinales y dos laterales aserrados, uno a cada lado (fig. 4D).

La concha es gruesa, pesada y recubierta de un periostraco de color muy variable. Se han encontrado coloraciones de diferentes tonalidades: castaño tabaco hasta casi negro; distintas tonalidades de verde, desde el verde casi amarillo hasta el verde oscuro; incluso algunas conchas presentan la mitad dorsal castaño y la ventral verde amarillento (figs. 4A, 4C).

La concha presenta una escultura formada por estrías concéntricas muy marcadas y distanciadas entre sí y, en ocasiones, se observan líneas muy finas entre las estrías.

En la cara interna de la concha se visualizan en posición anterior y posterior las dos impresiones de los músculos aductores, dorsalmente a éstas se observan las dos impresiones de los músculos retractores del pie (fig. 4B). La línea paleal une las impresiones de los músculos aductores y en su extremo posterior de demarcación forma el seno paleal (fig. 4B).



**Fig. 4: Concha de *Corbicula fluminea*.** A) Cara externa. B) Cara interna. C) Diferentes coloraciones de conchas. D) Detalle de la charnela. La lista de abreviaturas utilizadas para ésta y otras figuras aparece al final del capítulo Material y Métodos.

## 2- ANATOMÍA GENERAL DE LAS PARTES BLANDAS

### EL MANTO

El cuerpo está cubierto por el manto, que se encuentra adherido a la cara interna de la concha. En la cavidad del manto se encuentran las branquias y la masa visceral con sus respectivos órganos (fig. 5).

El manto presenta diferentes zonas. Próximo al borde de la concha es grueso y se hace paulatinamente más fino hacia la zona media. La estructura del borde del manto es compleja, está formada por tres pliegues (interno, medio y externo) con dos hendiduras entre ellos, siendo la más externa la que secreta el periostraco que recubre la concha.

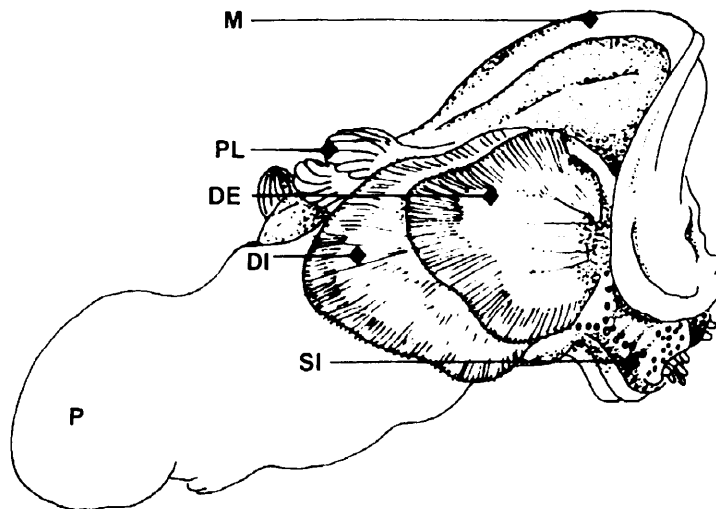


Fig 5: Anatomía de *Corbicula fluminea*. Dibujo de la anatomía externa con el manto levantado (dibujo: Rafael Araujo).

### LOS MÚSCULOS

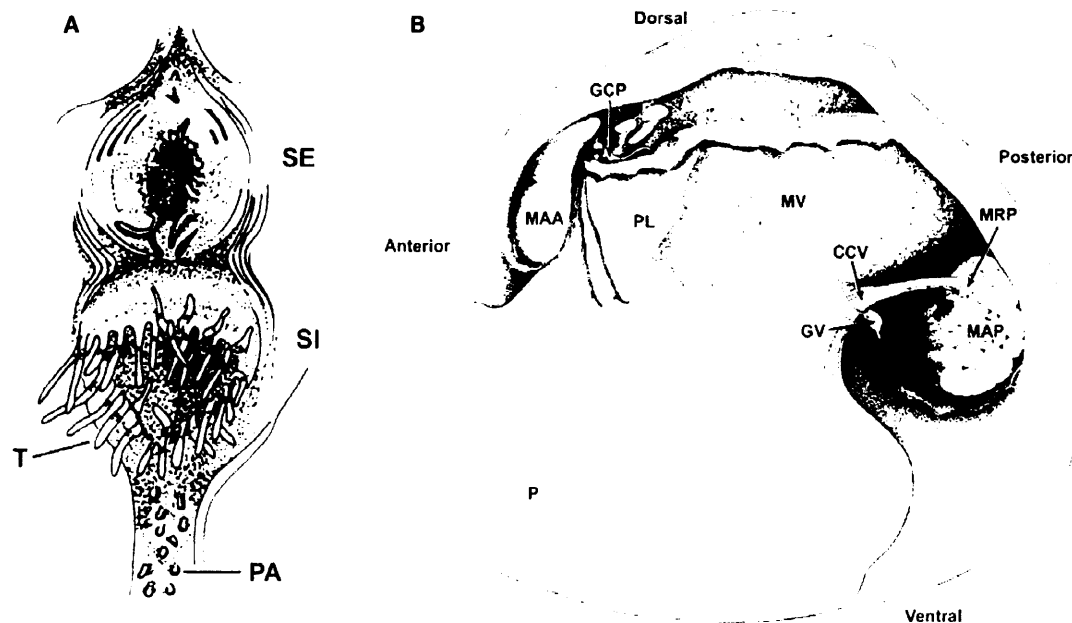
-Músculos aductores: son potentes y están unidos a la cara interna de las valvas en posición mediodorsal anterior y posterior. Sirven para cerrar las valvas.

-Músculos retractores pedales: se anclan a la cara interna de las valvas en posición dorsal al punto de anclaje de los aductores, son los encargados de retraer y estirar el pie.

### LOS SIFONES

En la parte posterior del cuerpo presenta dos sifones, inhalante y exhalante. Están formados por la fusión de los bordes derecho e izquierdo del manto y presentan una orna-





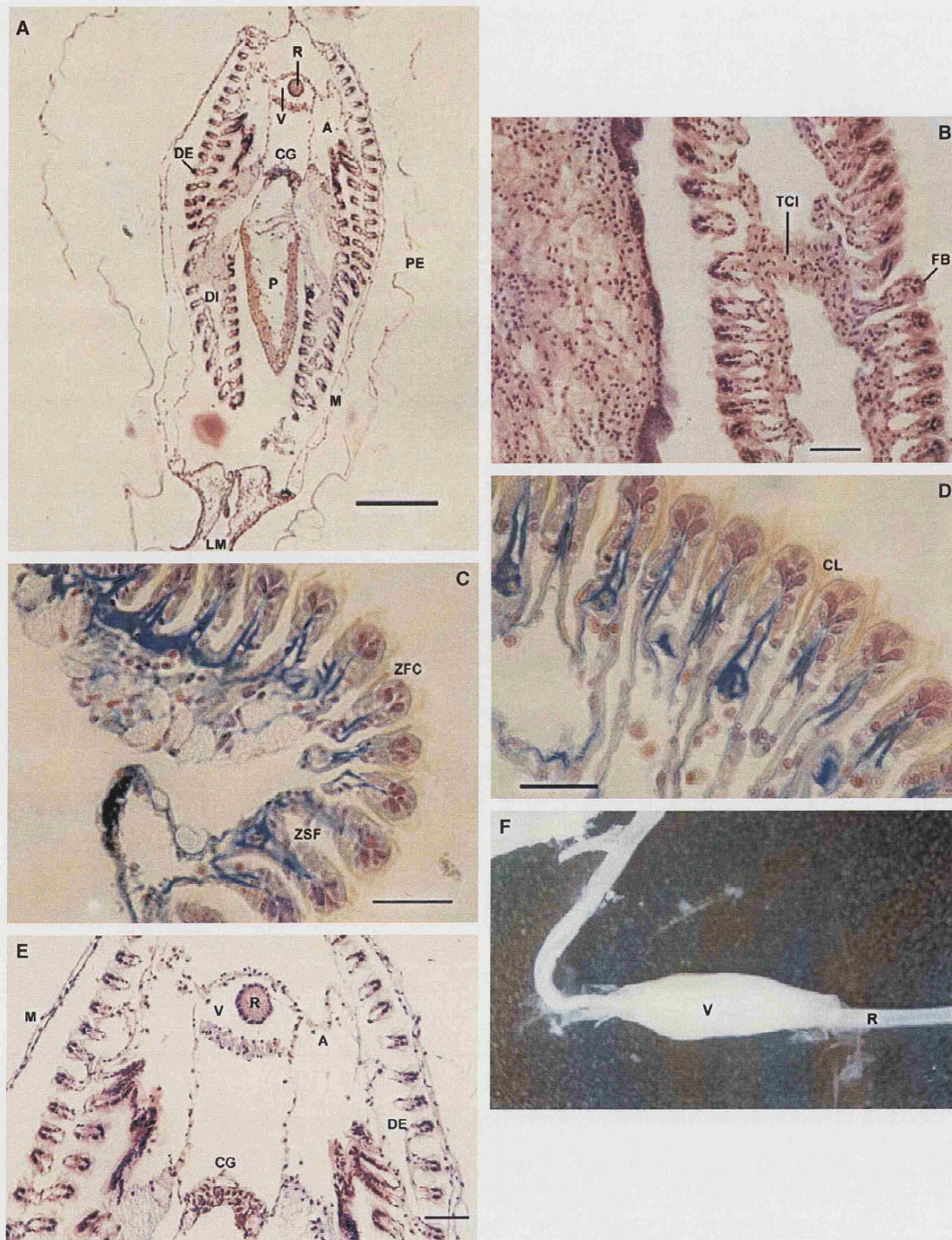
**Fig 6: Anatomía de *Corbicula fluminea*.** A) Sifón inhalante y sifón exhalante (ARAUJO *et al.*, 1993). B) Dibujo de anatomía general (KRAEMER *et al.*, 1986).

mentación externa conformada por papilas, tentáculos y pigmentos de un coloración negra y anaranjada. El sifón inhalante da paso a la cavidad branquial, se sitúa ventralmente al exhalante y presenta un diámetro mayor. En el sifón exhalante, de tamaño más pequeño, desemboca el recto (fig. 6A).

## LAS BRANQUIAS

Los ctenidios o branquias se sitúan bajo los lóbulos del manto a ambos lados de la masa visceral (figs. 5, 7A). Cada par branquial consta de una demibranquia externa, más pequeña, y una demibranquia interna. Cada demibranquia, a su vez, consta de una lamela ascendente y otra descendente unidas transversalmente por tejido conectivo interlamelar (figs. 7A, 7B). A su vez, las lamelas se componen de filamentos branquiales unidos entre sí (figs. 7C, 7D). Los filamentos branquiales constan de dos zonas: la zona frontal ciliada y la zona subfrontal no ciliada (fig. 7D). La zona ciliada consta, a su vez, de un área lateral, un área laterofrontal y un área frontal.

Las branquias dividen la cavidad del manto en dos cámaras: la cámara infrabranquial y la cámara suprabranquial. A esta última cámara caen los gametos procedentes de los gonoporos al interior de las demibranquias internas, donde se produce la fecundación y el desarrollo larvario.



**Fig 7: Branquias y corazón.** A) Sección histológica transversal de un juvenil de 2 mm. B) Sección histológica de la demibranchia interna. Se observan las lamelas branquiales unidas por tejido conectivo interlamelar. C) Filamentos branquiales, se observa la zona frontal ciliada y la sub-frontal no ciliada. D) Detalle de los filamentos branquiales, obsérvense los cilios de la zona frontal ciliada. E) Detalle del pericardio. Se observa el ventrículo atravesado por el recto y las dos aurículas. F) Foto de disección del intestino posterior y recto atravesando el ventrículo. Tinción H-E: A, B y E. Tinción de Azán: C y D. Escalas: 200  $\mu$ m (A), 50  $\mu$ m (B, E), 30  $\mu$ m (C), 20  $\mu$ m (D).

## LOS ÓRGANOS DEL PERICARDIO

**El corazón:** Se sitúa fuera de la masa visceral, en posición dorsal posterior. Es de color blanquecino casi transparente y consta de un ventrículo (atravesado por el recto) y dos aurículas (figs. 7E, 7F).

**El riñón:** Ubicado posteriormente al corazón, es de tonalidades anaranjadas y castañas y se compone de dos masas sin forma definida. En cortes histológicos se observa como un conjunto de canales compuestos por células cúbicas (fig. 8A).

El sistema renopericárdico desemboca en dos orificios en posición dorsal respecto a los gonoporos (figs. 8B, 8C), que se abren a las cámaras suprabranquiales.

## LOS ÓRGANOS DE LA MASA VISCERAL

### El sistema digestivo

En posición antero-lateral dos pares de palpos labiales flanquean la boca, que se abre a un esófago debajo de los ganglios cerebropleurales (fig. 9A). El esófago es corto y desemboca en un estómago grande y largo (fig. 8D). Éste presenta un estilo cristalino alojado en el saco del estilo, el cual desciende hasta la base del pie. En el extremo más ventral del saco del estilo, éste y el intestino medio se unen presentando un lumen común. Próximos a la base del pie, el intestino medio forma una serie de lazos intestinales (figs. 8E, 8F). A continuación, el intestino posterior asciende, saliendo de la masa visceral y atravesando el corazón (fig. 7F). El recto continúa por encima del riñón y desemboca en la papila anal del sifón exhalante. Las heces son descargadas en la corriente generada por la cámara supra-branquial vía sifón exhalante.

Gran parte del área anterior de la masa visceral, desde la zona más dorsal hasta la base del pie, está ocupada por acinos digestivos (fig. 8G). Estos confluyen en unos conductos comunes que desembocan en el estómago (fig. 8D).

### El sistema nervioso

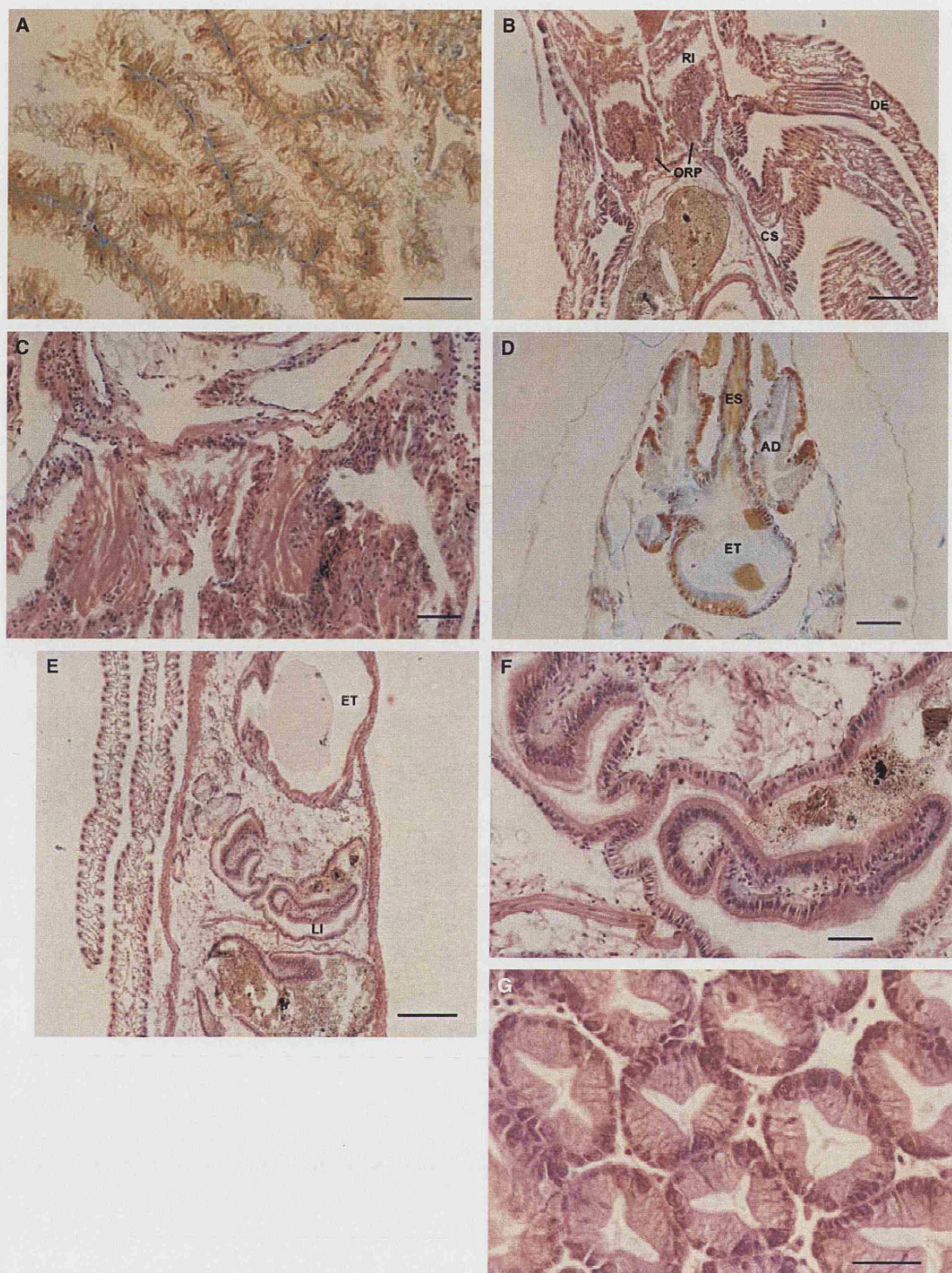
Se compone de tres centros neuronales importantes:

Los ganglios cerebropleurales, unidos por un conectivo, están situados fuera de la masa visceral en el extremo anterior, a ambos lados del esófago y en posición ventral respecto al músculo aductor anterior (fig. 9A).

El ganglio visceral, compuesto de una sola masa neuronal, está situado en el extremo posterior del cuerpo fuera de la masa visceral igualmente y en posición ventral respecto al músculo aductor posterior (fig. 9B).

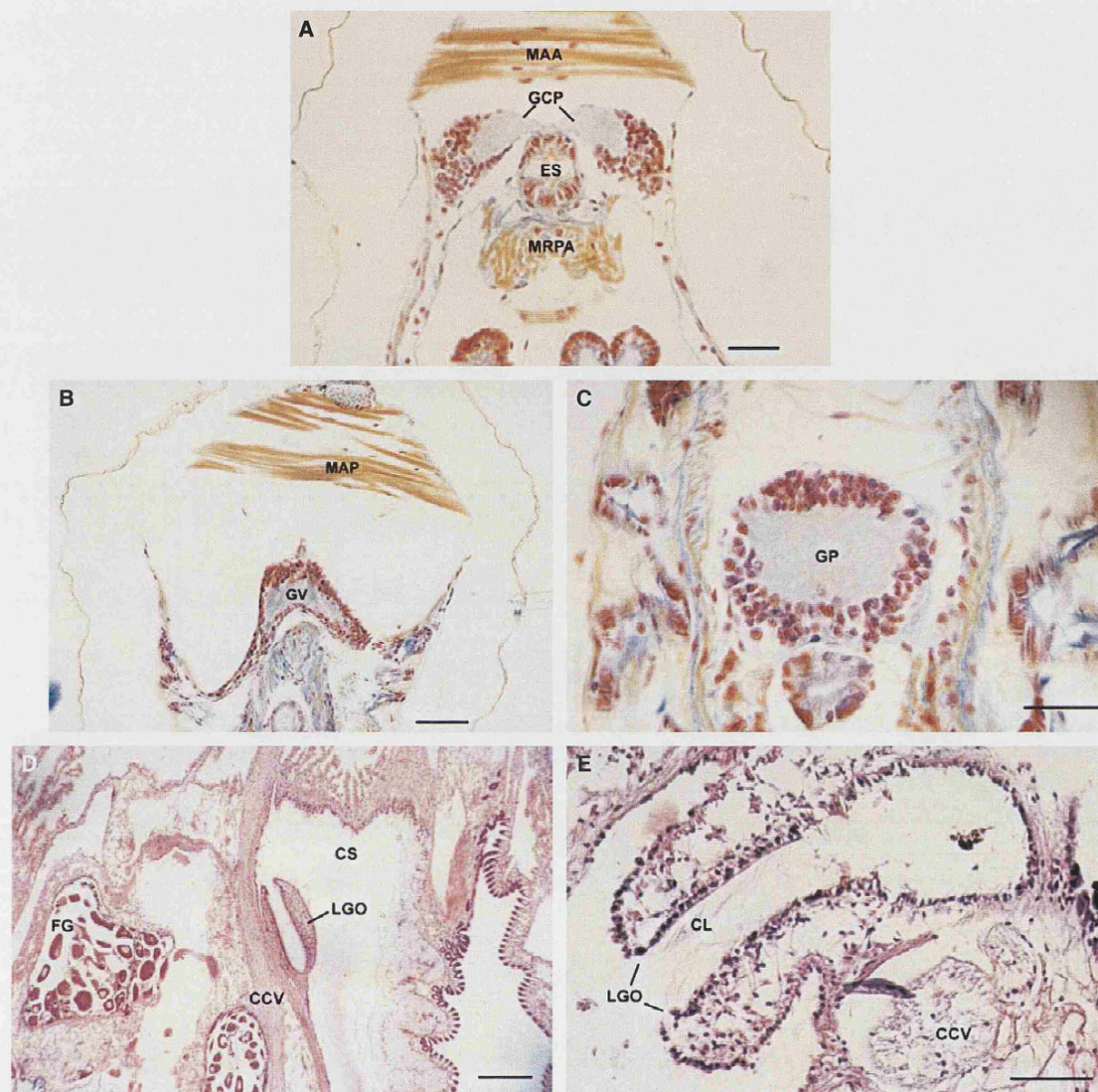
El ganglio pedio se ubica embebido en la zona dorsal-posterior del pie (fig. 9C), próximo al área de los lazos intestinales del digestivo. Del ganglio pedio parten ocho conectivos, uno de los cuales se une al ganglio cerebral.





**Fig 8: Riñón y sistema digestivo.** A) Células cúbicas del riñón. B) Conductos de evacuación renopericárdicos desembocando en la cámara suprabranquial de las demibranquias internas. C) Detalle de los conductos renopericárdicos. D) Se observa el esófago desembocando en el estómago, junto al estómago se aprecian los acinos digestivos. E) Sección longitudinal, se aprecia el estómago, la región de los lazos intestinales y el intestino posterior. F) Detalle de los lazos intestinales. G) Detalle de los acinos digestivos. Tinción H-E: B, C, E, F y G. Tinción de Azán: A y D. Escalas: 200  $\mu$ m (B y E), 50  $\mu$ m (C, D y F), 30  $\mu$ m (A y G).





**Fig 9: Sistema nervioso.** A) Ganglios cerebro-pleurales, entre ellos se encuentra el esófago, el músculo aductor anterior en posición dorsal y los músculos retractores anteriores del pie en posición ventral. B) Ganglio visceral, se observa el músculo aductor posterior en posición dorsal. C) Ganglio pedio. D) Sección longitudinal del conectivo cerebro-visceral, obsérvense los labios del gonoporo. E) Sección transversal del conectivo cerebro-visceral en posición ventral a los labios del gonoporo. Tinción H-E: D y E. Tinción de Azán: A, B y C. Escalas: 200  $\mu\text{m}$  (D), 50  $\mu\text{m}$  (A, B y E), 30  $\mu\text{m}$  (C).

Los conectivos cerebro-viscerales parten de los ganglios cerebro-pleurales, atraviesan la pared de la masa visceral ventralmente a los labios del gonoporo (figs. 9D, 9E) y recorren internamente la masa visceral hasta llegar al ganglio visceral.

### El sistema genital

El tejido gonadal de *Corbicula fluminea* está embebido en la masa visceral junto con el sistema digestivo, rodeados ambos por un parénquima de tejido conjuntivo (fig. 10A). Cuando

está desarrollada, la gónada ocupa prácticamente toda la zona posterior y las áreas periféricas de la zona anterior (ocupada ésta por los acinos digestivos fundamentalmente); ventralmente se extiende hasta la base del pie, próxima a la zona del ganglio pedio (postero-ventral), en la zona donde se forman los lazos del intestino, desapareciendo al mismo nivel (ventral) los folículos gonadales y los acinos digestivos. La gónada es una glándula hermafrodita que se compone de canales foliculares ramificados con folículos ovogénicos o femeninos, espermatogénicos o masculinos y hermafroditas o mixtos, en donde pueden coincidir simultáneamente células masculinas y femeninas. No existen localizaciones topográficas definidas para cada sexo; ambas (y dependiendo de cada individuo) se pueden localizar en cualquier zona del área gonadal.

El color de los folículos femeninos en fresco, compuestos por ovocitos vitelogénicos, es castaño lechoso (fig. 10B). Los ovocitos previtelogénicos son transparentes. En ejemplares de longitudes superiores a 14-15 mm, el color de los folículos masculinos es blanco, y en ocasiones amarillento (fig. 10C). En individuos de tamaños inferiores la fracción masculina suele ser transparente.

En la zona dorsal posterior, externamente y a cada lado de la masa visceral (a ambos lados del cuerpo), se sitúan un par de gonoporos, donde desembocan los folículos gonadales y por donde salen los gametos maduros (tanto femeninos como masculinos) (figs. 9D, 9E). Desde los gonoporos los gametos son vertidos a las cámaras suprabranquiales de las demibranquias internas (figs. 10D, 10E, 10F). No existe un auténtico gonoducto por lo que se considera "región del gonoducto" (figs. 10G, 10H) a la zona comprendida entre los gonoporos. La "región del gonoducto" se encuentra en la región dorsal posterior de la masa visceral, en posición ventral respecto al riñón.

### **Anatomía microscópica de la gónada**

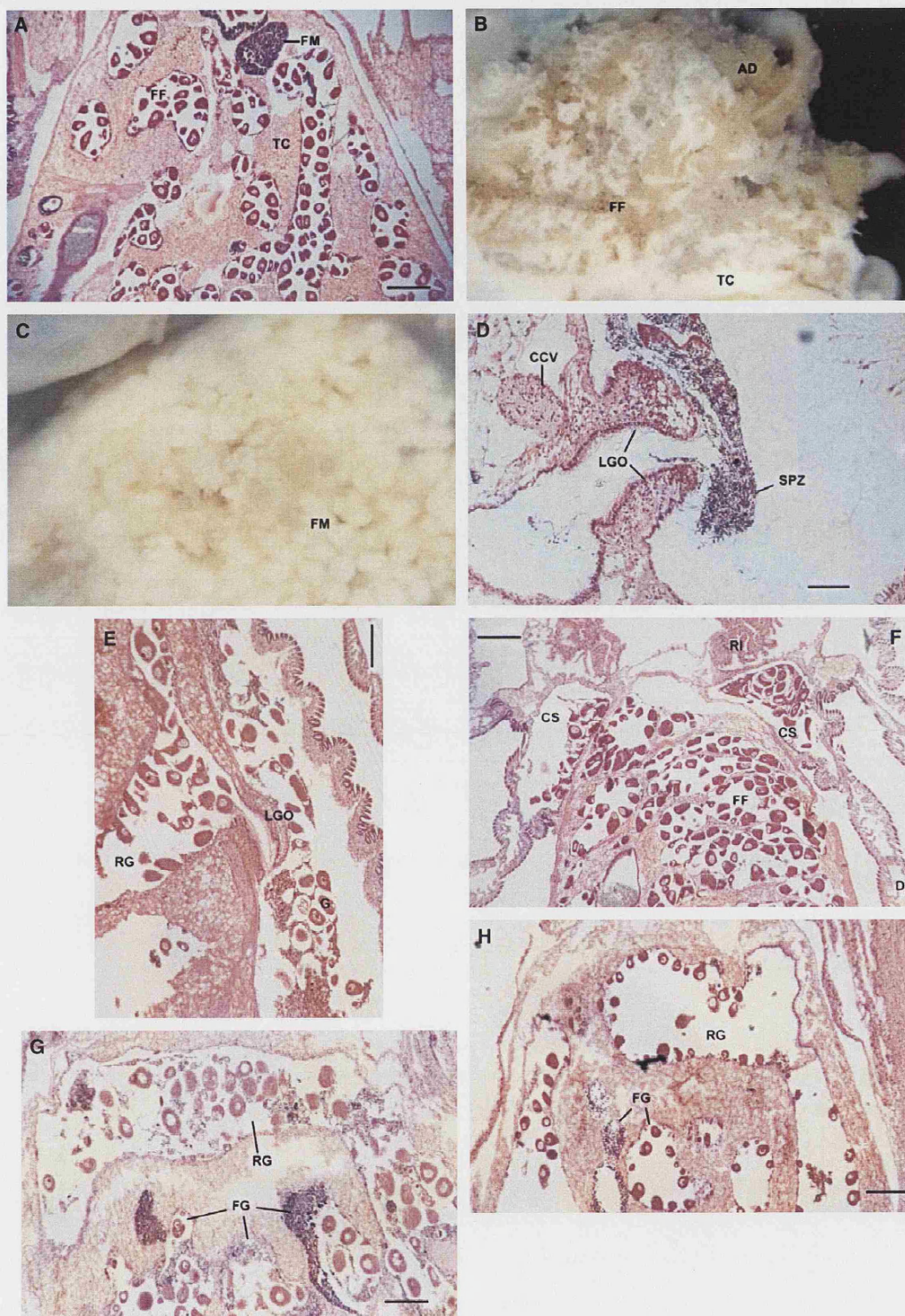
#### **ESTRUCTURA FOLICULAR**

Los folículos gonadales presentan dos tipos celulares: las células germinales (masculinas y femeninas) (figs. 11A, 11C) dominantes en los folículos y las células foliculares en la periferia (figs. 11A, 11B, 11C).

En los folículos ovogénicos y en la parte femenina de los folículos hermafroditas, dependiendo del estado de maduración, se desarrolla la serie típica celular a nivel de la pared folicular: ovogonias y ovocitos previtelogénicos. Unidos a la pared folicular mediante pedúnculos se encuentran los ovocitos vitelogénicos, y libres en la luz folicular se observan ovocitos maduros (figs. 11D, 11E).

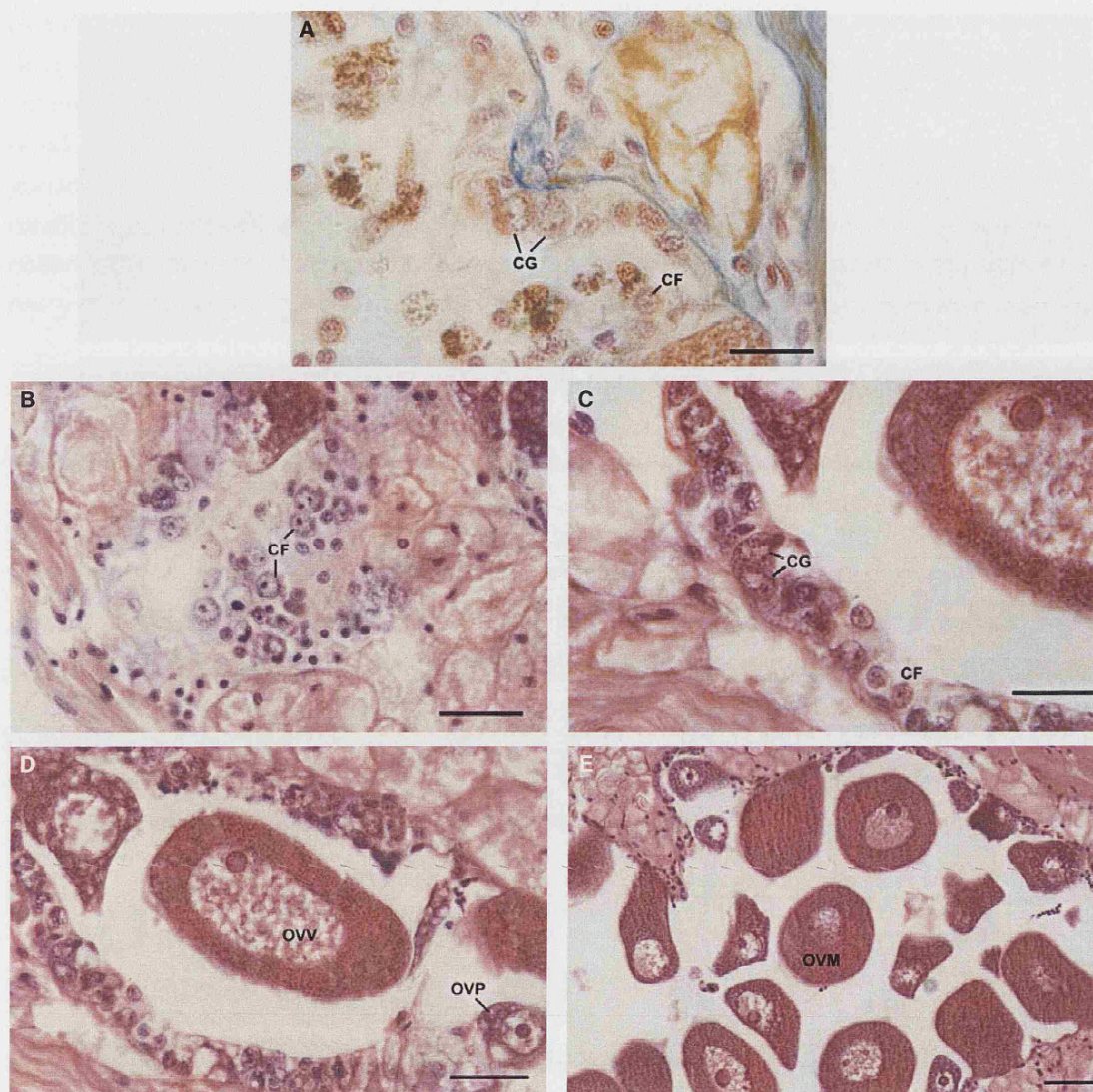
En los folículos espermatogénicos se encuentra un patrón similar de disposición: espermatogonias a nivel de la pared folicular y, de forma ordenada y hacia el interior, se observan, espermátocitos de grado I, espermátocitos de grado II, espermátidas y espermatozoides (figs. 12A, 12B). Se ha observado que no siempre se cumple este esquema de modo que en ocasiones se observan espermatogonias, espermátocitos y espermátidas mezcladas en un mismo estrato. De manera habitual los espermatozoides se encuentran unidos por sus cabezas y con sus colas dispuestas hacia la luz folicular (fig. 12C), y en ocasiones, formando estructuras en forma de "bola" y en forma de "U" (fig. 12D). Si el proceso evacuatorio ha





**Fig 10: Sistema genital.** A) Sección de la masa visceral; se observan folículos gonadales y tejido conjuntivo de relleno. B) Detalle de la masa visceral sin la cubierta epitelial; se aprecia la fracción genital femenina de color castaño y los acinos digestivos de tonos amarillentos. C) Detalle de la fracción genital masculina de color blanquecino. D y E) Labios del gonoporo vertiendo gametos a la cámara suprabranquial. F) Sección transversal medio dorsal; obsérvense los gametos evacuados en la cámara suprabranquial. G y H) Región del gonoducto; obsérvense los ovocitos en la pared de la región del gonoducto. Tinción H-E: A, B, E, F y G. Escalas: Escalas: 200  $\mu$ m (A, E, F, G y H), 50  $\mu$ m (D).





**Fig 11: Folículos gonadales.** A y B) Células foliculares y células germinales. C) Estrato del folículo femenino; se aprecian células germinales y células foliculares. D y E) Folículo femenino; en el estrato folicular se observan ovogonias y ovocitos previtelogénicos y ovocitos vitelogénicos en la luz folicular. Tinción H-E: B, C, D y E. Tinción A: A. Escalas: 50  $\mu$ m (E), 30  $\mu$ m (D), 20  $\mu$ m (A, B y C).

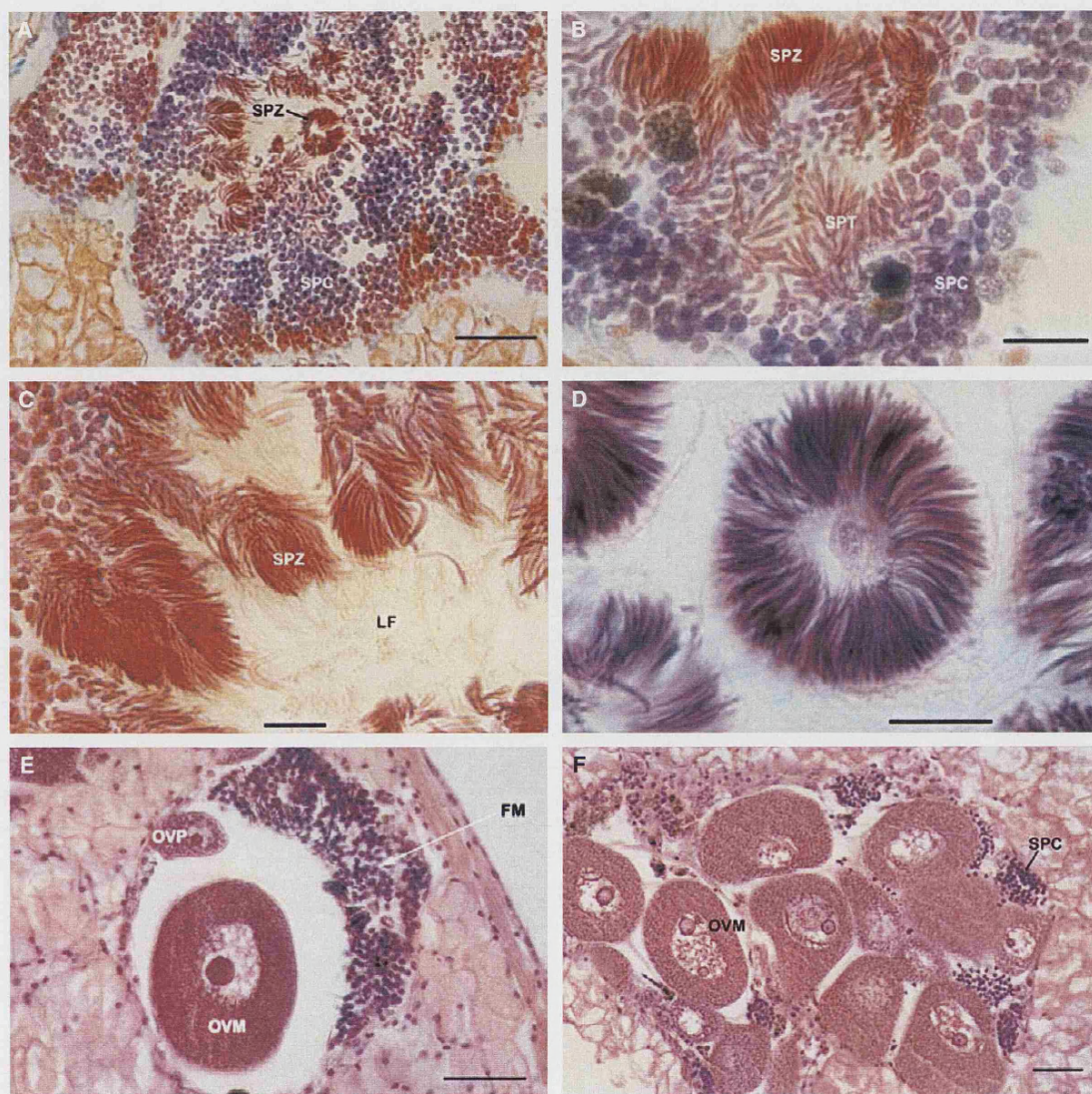
comenzado, en ocasiones estas bolas se desprenden sin desordenarse, aunque lo más habitual en estos casos es observar los espermatozoides independientes.

Existen dos tipos de folículos mixtos:

- 1) Los que presentan una zona femenina y otra masculina (fig. 12E) y
- 2) los que presentan ambas líneas germinales mezcladas sin ningún tipo de orden dentro del folículo (fig. 12F).

Los más habituales son los que presentan ambas fracciones sexuales diferenciadas espacialmente en el folículo.





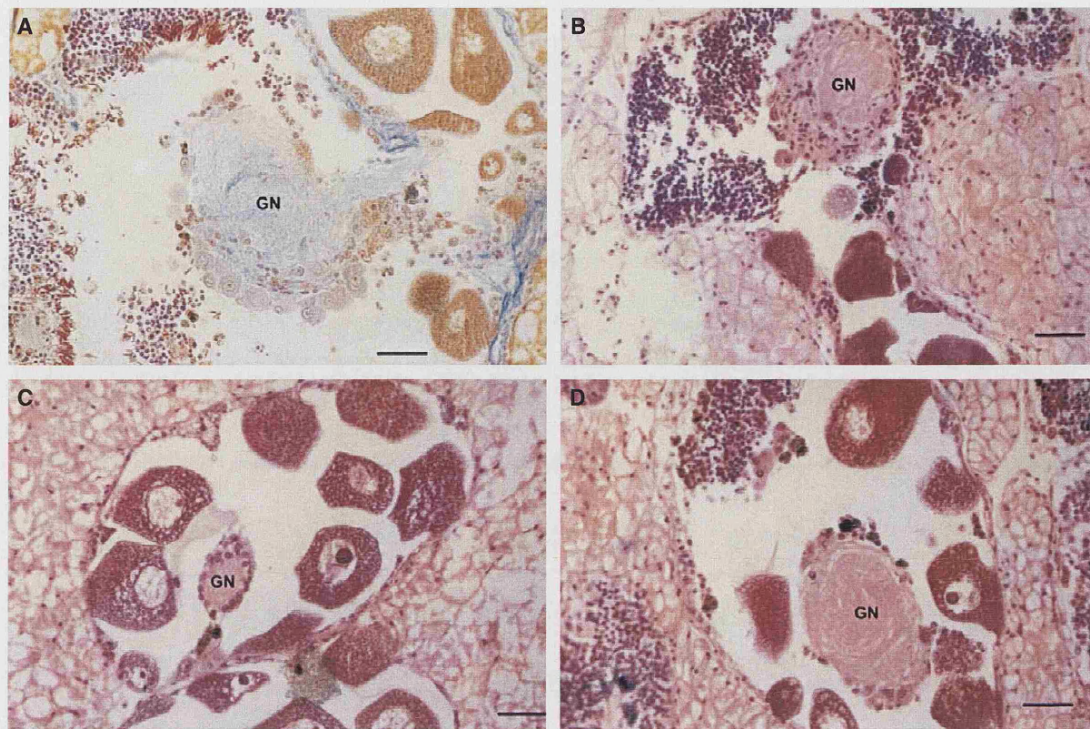
**Fig 12: Folículos gonadales.** A) Folículo masculino; se aprecia el estrato de espermatocitos y el de espermatozoides. B) Folículo masculino; se observan en el estrato basal espermatocitos y, hacia el interior, espermátidas y espermatozoides. C) Detalle de los espermatozoides agrupados por las cabezas y con las colas hacia la luz folicular D) Detalle de una estructura en forma de "bola" con los espermatozoides agrupados por las cabezas. E) Folículo hermafrodita con las fracciones sexuales diferenciadas. F) Folículo hermafrodita con las fracciones sexuales mezcladas. Tinción H-E: D, E y F. Tinción A.: A, B y C Escalas: 50  $\mu$ m (A, E y F), 20  $\mu$ m (B), 10  $\mu$ m (C y D).

No se ha observado ninguna relación entre la maduración de la gónada y el tamaño de las células foliculares; éstas permanecen invariables durante la gametogénesis. Tampoco se ha observado ningún tipo de inclusión o gránulo en el interior de las células foliculares.

#### VÍAS DE EVACUACIÓN

Los gametos se evacuan por una serie de conductos que realmente son folículos gonadales ensanchados que desembocan en la región del gonoducto (fig. 10H), por lo que las vías de evacuación son comunes para los dos sexos (fig. 10G). No existe un auténtico gono-





**Fig 13: Ganglio neuroma.** A) Ganglio neuroma en un folículo hermafrodita. B) Ganglio neuroma en la fracción masculina de un folículo hermafrodita. C) Ganglio neuroma en folículo femenino. D) Ganglio neuroma en la fracción femenina de un folículo hermafrodita. Tinción H-E: B-D. Tinción A: A. Escalas: 50  $\mu$ m.

ducto por lo que se considera “región del gonoducto” (figs. 10G y 10H) a la zona comprendida entre los gonoporos. Normalmente la “región del gonoducto” se une a los folículos que se sitúan por debajo (fig. 10H), e incluso en la misma región del gonoducto se observan células germinales (frecuentemente de la línea femenina) y foliculares.

Cada gonoporo presenta dos labios de epitelio monoestratificado con largos cilios (fig. 9E).

Dorsalmente a los gonoporos se abren los orificios renopericárdicos (figs. 8B, 8C).

#### GANGLIO FOLICULAR / GANGLIO NEUROMA

En el interior de los folículos gonadales se ha encontrado una estructura de aspecto ganglionar. Presenta una zona cortical con numerosas células de aspecto neuronal (de tamaño grande y abundante citoplasma) y una zona central en donde confluyen las fibras nerviosas, que recuerda al neuropilo ganglionar (fig. 13A).

Aparentemente parece estar más relacionada con la fracción masculina, ya que aparece de manera más habitual en el interior de los folículos masculinos, o en la región masculina de los folículos mixtos (fig. 13B). No obstante, también aparece en folículos estrictamente femeninos (fig. 13C) o en zonas femeninas de folículos mixtos (fig. 13D). De manera más frecuente aparece en ejemplares de tamaños superiores a 17 mm. De 41 ejemplares mayores de 17 mm, el 78% presentaba ganglios neuroma en la gónada. Tan solo en 9 indi-

viduos (22%) no se observó esta estructura. Los individuos más pequeños en los que se han hallado ganglios foliculares tienen 14 y 15 mm respectivamente.

Dos de nuestras preparaciones histológicas de gónada de *C. fluminea* afectadas por ganglio neuroma, han sido incluidas en el "Registry of tumors in Lower Animals" (RTLA) del Medical Center de la Universidad "George Washington" (Washington D.C).

### **3- BIOLOGÍA REPRODUCTORA**

#### **EL SISTEMA GENTAL**

##### **Desarrollo de la gónada**

En individuos juveniles (longitudes entre 1 y 3 mm), las células germinales se localizan en el límite dorsal-posterior de la masa visceral, en posición ventral respecto a los orificios renales y a la cavidad pericárdica. Forman una masa sólida bordeada lateralmente por los dos conectivos cerebro-visceral (figs. 7A, 7E, 14A). En ejemplares de estos tamaños no se han observado los labios de los gonoporos ni conductos similares a los de la región del gonoducto de los adultos.

A partir de este grupo de células germinales se desarrolla la gónada primaria en individuos de hasta 6 mm de longitud aproximadamente. Se forma una cavidad en el centro y se comienzan a desarrollar estrechos canales foliculares que se extienden anteriormente hacia el estómago y ventralmente hasta la región de los lazos intestinales. En el interior de estos folículos se observan gonias indiferenciadas y células foliculares. A continuación se forman la región del gonoducto y los gonoporos. En la masa visceral el parénquima de tejido conjuntivo presenta una consistencia laxa (no compacta como en adultos). Básicamente, toda la masa visceral, excepto la región más posterior, está ocupada por digestivo. El estómago y el saco del estilo, ambos de gran tamaño, ocupan el área central de la masa visceral.

##### **Diferenciación sexual**

Ambas líneas germinales se diferencian sexualmente al mismo tiempo, de modo que en individuos de longitudes superiores a 6-7 mm se pueden diferenciar las células de la línea sexual femenina de las de la masculina. En ejemplares de estos tamaños, se observan ovogonias, ovocitos previtelogénicos, espermatogonias y, en algunos de ellos, espermatoцитos.

De manera general, los individuos permanecen inmaduros y con ambas líneas germinales diferenciadas hasta tamaños de 9-10 mm.

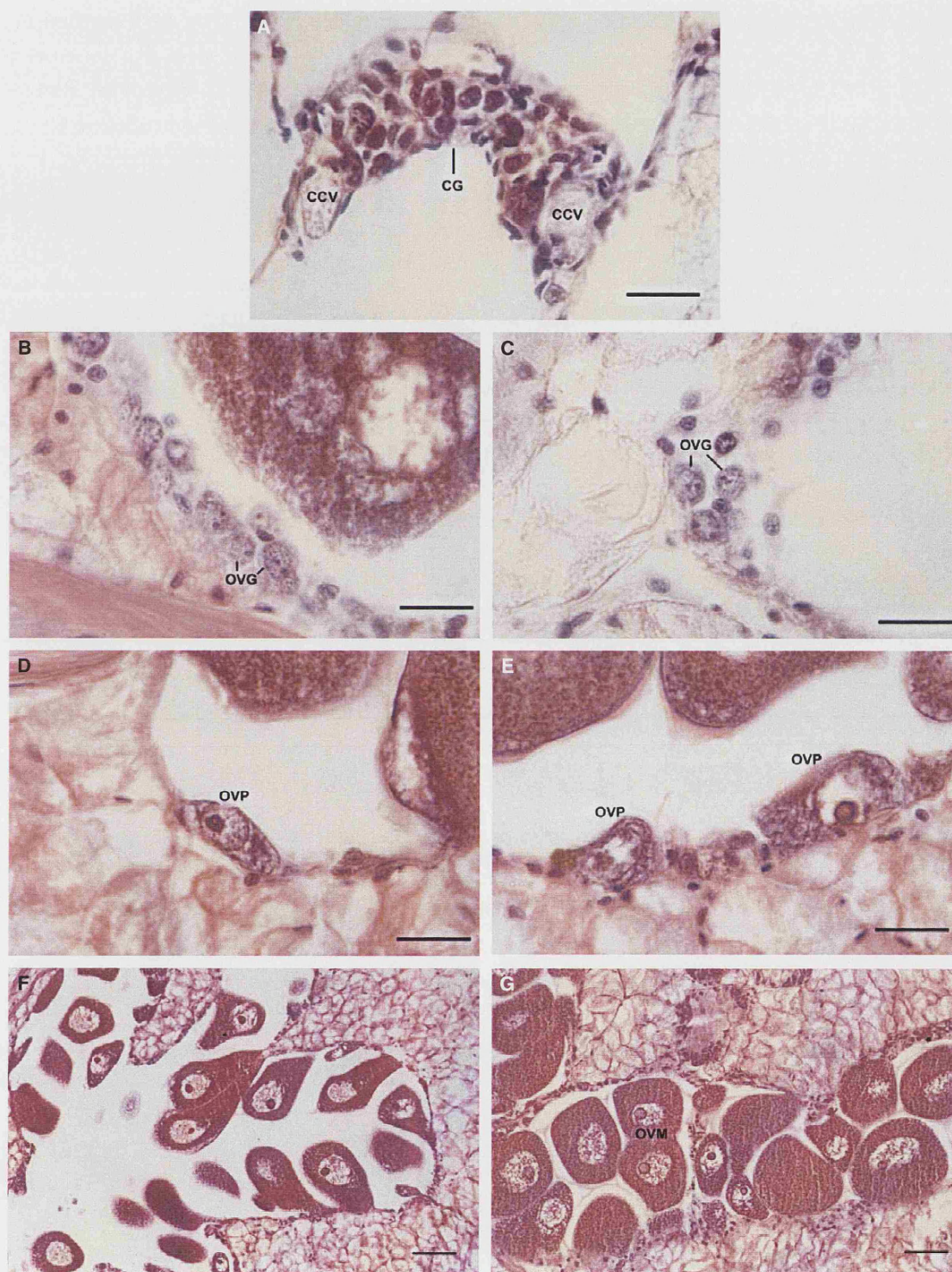
##### **Maduración de la gónada**

La maduración de las células germinales no es sincrónica en todos los folículos, de modo que es habitual observar ejemplares con folículos en distintos estados de maduración.

Una vez que ambas líneas germinales están diferenciadas sexualmente, es la línea germinal femenina la que primero completa la gametogénesis. De manera habitual, en estos individuos se observa la fracción femenina madura o en maduración y, bien periféricos o independientes a la fracción femenina, pequeños folículos masculinos inmaduros.

Los ejemplares a partir de 11-12 mm de longitud suelen tener ya la línea germinal femenina completamente madura. Se han observado ejemplares a partir de 9 mm que presentan fracciones, nunca la totalidad, de los folículos femeninos maduros.





**Fig 14: Células germinales.** A) Masa de células germinales bordeada por los conectivos cerebro-visceral. **Serie germinal femenina: tipos celulares.** B y C) Oögonias. D y E) Oöcitos previtelogénicos. F) oöcitos vitelogénicos. G) Oöcitos vitelogénicos maduros. Tinción H-E: A-G. Escalas: 50  $\mu$ m (F y G), 20  $\mu$ m (A-E).

La fracción masculina madura generalmente en ejemplares a partir de 14-15 mm, no obstante y de manera aislada, durante los meses de verano se han encontrado ejemplares de 11 y 13 mm con folículos masculinos maduros. La presencia de espermatozoides aislados es habitual en individuos a partir de 10 mm; sin embargo, los espermatozoides no forman haces y están dispersos en los distintos folículos. El ejemplar más pequeño observado con espermatozoides medía 6 mm (junio de 1995).

### **Gametogénesis. Caracterización de los tipos celulares de la serie germinal**

#### **SERIE FEMENINA**

Ovogonias: Se observan formando grupos sobre la pared folicular. Muy semejantes a las espermatogonias. No se pueden establecer diferencias en base al número de nucleolos ya que tampoco presentan un número fijo (uno, dos o tres). Su diámetro nuclear es de 6.9-7.7  $\mu\text{m}$  (figs. 14B, 14C).

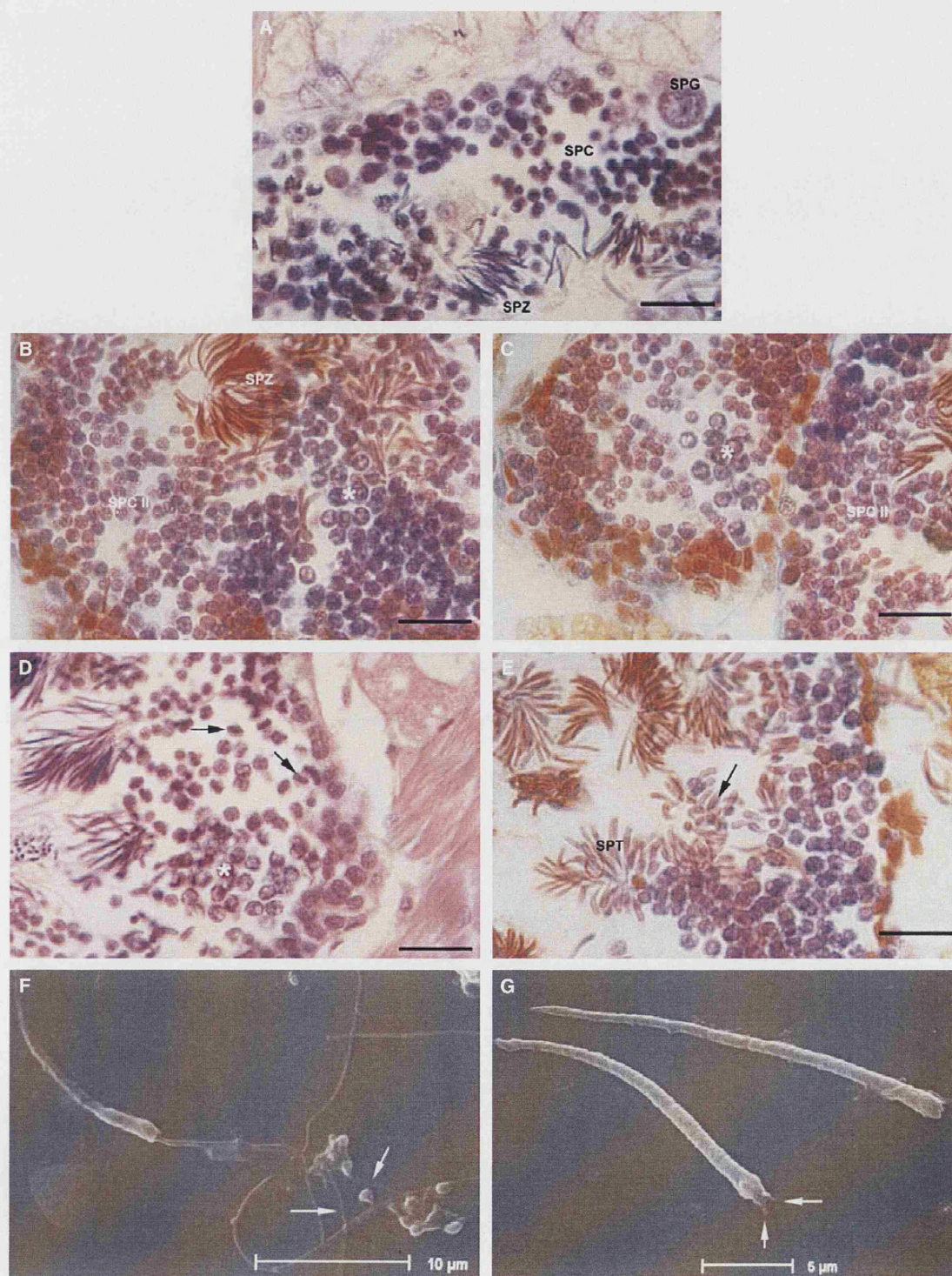
Ovocitos previtelogénicos: El paso de ovogonia a ovocito se realiza de manera progresiva, aumentando el tamaño del citoplasma; los nucleolos se van fusionando hasta formar un nucleolo de mayor tamaño y con una coloración más refringente en su borde externo (tamaño celular: aproximadamente 14  $\mu\text{m}$ , tamaño nuclear: 10  $\mu\text{m}$ ). Se caracterizan por su amplia unión a la pared folicular y por presentar un citoplasma basófilo y de aspecto vacuolar (figs. 14D, 14E). Al final de la previtelogénesis los ovocitos han alcanzado una talla celular de aproximadamente 35-40  $\mu\text{m}$ , con diámetros nucleares de 20-22  $\mu\text{m}$ .

Ovocitos vitelogénicos: Se produce un aumento progresivo de la talla celular debido a la acumulación de vitelo en el citoplasma. El citoplasma, de aspecto más uniforme, se va tornando más eosinófilo a medida que crece el ovocito y éste se va separando de la pared celular, manteniéndose unido a ella mediante un pedúnculo (fig. 14F). Completado el proceso de la vitelogénesis, el ovocito alcanza la madurez con tamaños de 95-110  $\mu\text{m}$ , se separa de la pared y cae a la luz folicular (fig. 14G).

#### **SERIE MASCULINA**

Espermatogonias: representan los elementos basales de la línea masculina, localizándose sobre la pared folicular. Las espermatogonias troncales o primarias destacan por su gran tamaño, núcleo grande débilmente teñido con gránulos de cromatina dispersos, citoplasma escaso más densamente teñido y, diámetro nuclear de 9.2-10.8  $\mu\text{m}$  (fig. 15A). Las espermatogonias secundarias presentan un aspecto similar al de las espermatogonias primarias, con la diferencia de una reducción del diámetro nuclear que es de 6.9-7.7  $\mu\text{m}$ . El número de nucleolos no es fijo, se han observado uno, dos y tres nucleolos.





**Fig 15: Serie germinal masculina: tipos celulares.** Secciones histológicas de folículos masculinos: A) Espermatogonias. B y C) Se observa el estrato de espermatocitos II y los espermatocitos I en fase de diploteno marcados con un asterisco. D) Espermatocitos I en fase de diploteno (\*) y en metafase (flecha). E) Espermatocitos y espermatidas, la flecha indica espermatidas en fase de caperuza. F y G) Espermatozoides al MEB, las flechas indican los dos flagelos del espermatozoide. Tinción H-E: A y D. Tinción de Azán: B, C y E. Escalas: 20  $\mu$ m.

Espermatocitos I: Fácilmente distinguibles por las distintas imágenes nucleares correspondientes a diferentes etapas de la profase de la primera división meiótica (ej: diploteno) (figs. 15B, 15C y 15D) y de la metafase (fig. 15D). El diámetro nuclear es de 3.9-4.6  $\mu\text{m}$ .

Espermatocitos II: Su identificación resulta dificultosa. El núcleo, de forma esférica, presenta numerosos granos de cromatina fuertemente teñidos. El diámetro nuclear es de 2.5-2.7  $\mu\text{m}$  (fig. 15B).

Espermátidas: El núcleo es esférico y se tiñe de forma densa y uniforme. El diámetro nuclear es de 2.3-2.7  $\mu\text{m}$ . Resultan más fácilmente identificables cuando se presentan en fase de caperuza (fig. 15E) o en estadios avanzados de la espermiogénesis.

Espermatozoides: Presentan una cabeza filiforme de longitud entre 18.5-20  $\mu\text{m}$ . Son biflagelados, con colas de gran longitud (figs. 12D, 15F, 15G). En los folículos se presentan en "haces" unidos por sus cabezas con las colas dispuestas a la luz folicular (fig. 12C).

## CICLO SEXUAL

De manera general, en individuos de longitudes superiores a 14 mm la gametogénesis se produce de manera continua a lo largo del año encontrándose ejemplares con alguna o ambas líneas germinales maduras en cualquier mes.

### Evolución gonadal. Estados gonadales

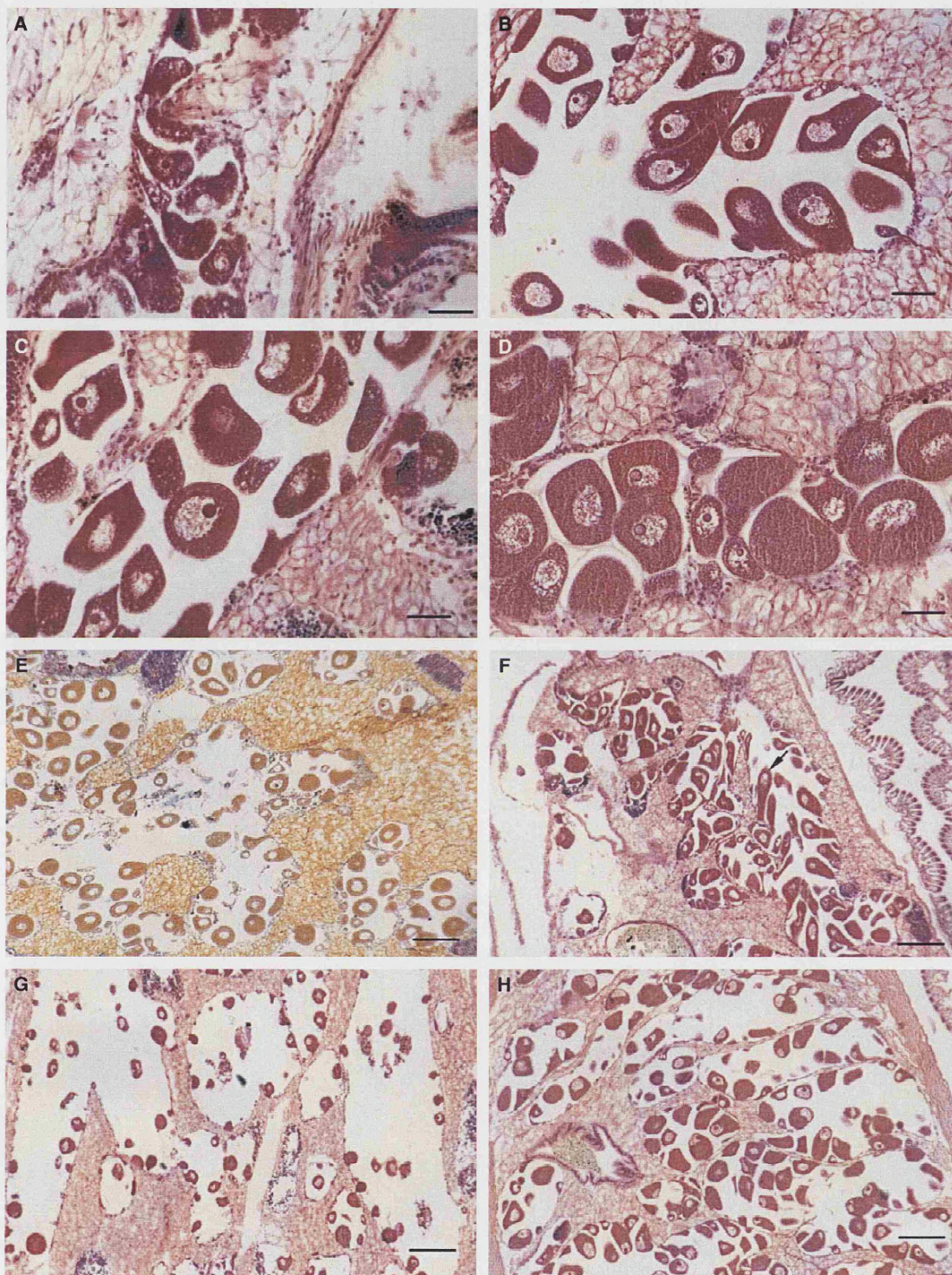
Una vez caracterizados los tipos celulares de la serie germinal, tanto masculina como femenina, el estudio del ciclo sexual se ha llevado a cabo de la siguiente manera:

- A) Se ha procedido al seguimiento de la evolución gonadal, es decir, de los cambios micro-morfológicos que se producen en ambas líneas germinales según avanza el proceso de la gametogénesis. Se describen los estados gonadales, desde la inmadurez sexual a la evacuación de gametos y se definen siguiendo la nomenclatura de CHEN *et al.* (1994).
- B) Con la información anterior se ha llevado a cabo un análisis histológico de individuos de diferentes tallas recolectados mensualmente, lo que proporciona una primera estimación del ciclo sexual de *C. fluminea* en el río Miño.
- C) Estas observaciones se complementan mediante el estudio de frotis de la fracción genital masculina, que nos informa sobre el estado de madurez de la misma.

#### LÍNEA FEMENINA

Inmaduro (fig. 16A): Los folículos están compuestos por ovogonias, ovocitos previtelogénicos y ovocitos vitelogénicos de tamaño pequeño (inferior a 50-55  $\mu\text{m}$ ).





**Fig 16: Estados gonadales. Línea femenina.** A) Folículo femenino en estado inmaduro. B) Estado premaduro temprano. C) Premaduro avanzado. D) Maduro. E y F) Estado de evacuación; nótese la deformación de los ovocitos (flecha) por efecto del proceso evacuatorio. G) Folículo evacuado. H) Evacuado / Premaduro. Tinción H-E: A, B, C, D, F y G. Tinción de Azán: E. Escalas: 200  $\mu$ m (E-H), 50  $\mu$ m (A-D).

Premaduro temprano (fig. 16B): Predominan los ovocitos vitelogénicos de pequeño tamaño (50-70  $\mu\text{m}$ ), de formas poligonales y todos pedunculados. La luz folicular suele ser amplia.

Premaduro avanzado (fig. 16C): En los folículos predominan los ovocitos pedunculados de tamaños mayores (80-90  $\mu\text{m}$ ). Comienzan a verse ovocitos maduros de formas redondeadas no pedunculados.

Maduro (fig. 16D): Folículos compuestos por ovocitos de tamaños grandes (95-110  $\mu\text{m}$ ), de contornos redondeados, la mayoría no pedunculados. Si no ha comenzado el proceso evacuatorio, los folículos son estrechos y los ovocitos están compactados en su interior.

Evacuación (fig. 16E): Los ovocitos ya maduros están libres en los folículos, y éstos presentan numerosos claros en su interior. Habitualmente se observan ovocitos arrastrados en folículos contiguos, en la región del gonoporo, y evacuados en la cámara suprabranquial de las demibranquias internas (fig. 10F). Algunos folículos presentan ovocitos pedunculados muy alargados y deformados hacia la luz folicular, como consecuencia del arrastramiento del proceso evacuatorio (fig. 16F). Es habitual observar restos de material degradado y células "basura".

Evacuado (fig. 16G): Los folículos, de aspecto flácido pero grandes, están prácticamente vacíos. Se observan ovocitos remanentes maduros libres en la luz folicular y algunos pedunculados. En su interior se suelen encontrar restos de material degradado y "células basura".

Premaduro / evacuado (fig. 16H): Los folículos presentan un aspecto inflado, con numerosos claros entre los ovocitos. Estos son pedunculados y de forma poligonal. De manera habitual, se observa material degradado.

Todos los estados presentan en la periferia de los folículos grupos de ovogonias, observadas con frecuencia en mitosis.

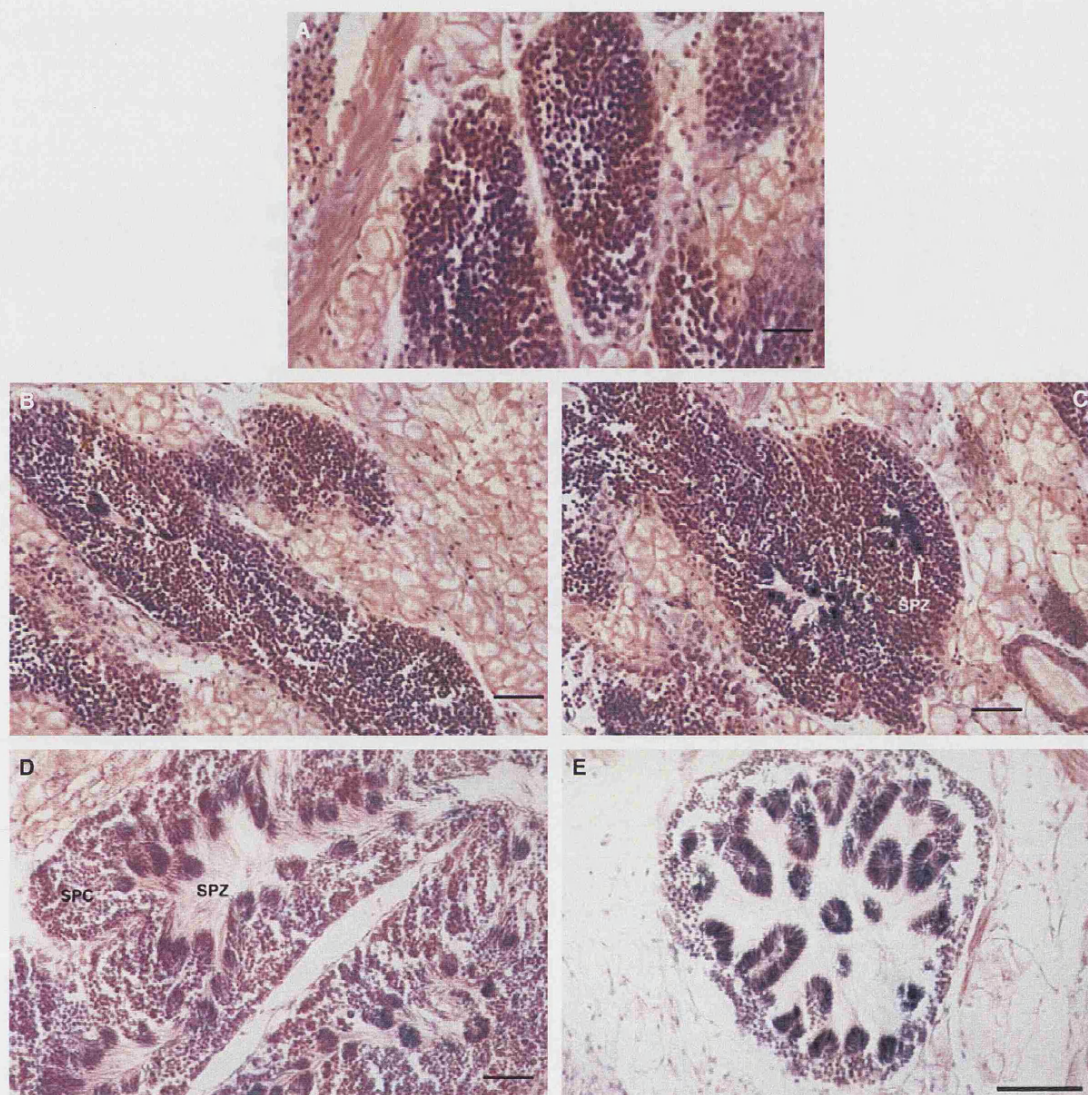
En ningún ejemplar se ha observado periodo de reposo o inactividad sexual.

#### LÍNEA MASCULINA

Inmaduro (fig. 17A): Folículos gonadales de aspecto compacto; las células germinales están muy juntas no presentando espacios entre ellas. Se observan espermatogonias en el estrato basal, el resto del folículo está ocupado por espermatocitos y en ocasiones se localizan pequeños grupos de espermátidas. No se observan espermatozoides y no hay luz folicular. Este estado inmaduro es propio de individuos inferiores a 14 mm.

Premaduro temprano (fig. 17B): El aspecto de los folículos continúa siendo compacto. Aparecen espermatozoides dispersos (no forman haces), y el estrato de espermatocitos es el más abundante.





**Fig 17: Estados gonadales. Línea masculina.** A) Folículo masculino en estado inmaduro. B) Premaduro temprano. C) Premaduro. D) Premaduro avanzado. E) Maduro. Tinción H-E: A-E. Escalas: 50  $\mu$ m (A-D), 20  $\mu$ m (E).

Premaduro (fig. 17C): El centro de los folículos está ocupado por haces de espermatozoides agrupados por sus cabezas, aunque poco numerosos. El estrato de espermatocitos (que se mantiene compacto) continúa siendo el más abundante. Se comienza a ver luz folicular que paulatinamente se irá haciendo más grande.

Premaduro avanzado (fig. 17D): Los haces de espermatozoides en el centro de los folículos son abundantes, observándose el estrato de espermatozoides en proporción similar al de espermatocitos. La luz folicular ha aumentado. Los ejemplares que presentan la gónada en este estado son considerados “fecundadores potenciales” por la abundancia de espermatozoides que presentan.

**Maduro** (fig. 17E): Los haces de espermatozoides son abundantes en el centro de los folículos. Por lo general, el estrato de espermatocitos es más delgado y en ocasiones forma una fina capa. La luz folicular es amplia. Los ejemplares maduros son considerados también fecundadores potenciales.

**Evacuación** (figs. 18A, 18B): Se observa una mezcla desordenada de espermatozoides en la luz de los folículos y, en menor medida, espermatocitos arrastrados. A su vez, se observan esferas de espermatozoides y/o espermatozoides libres evacuados en la luz folicular, así como en la zona del gonoducto y cámara suprabranquial. Comienzan a aparecer restos de material degradado y células “basura” que se caracterizan por presentar un núcleo esférico refringente y un citoplasma hialino de tamaño variable, de coloración suave y sin gránulos aparentes (fig. 18C).

**Evacuado** (fig. 18C): Los folículos están prácticamente vacíos. Se observa un fino estrato de espermatocitos y espermatozoides residuales desordenados (no compactados). Frecuentemente aparecen en el interior de los folículos restos de material degradado y agrupamientos de “células basura” (figs. 18E, 18F).

**Evacuado / premaduro** (fig. 18D): El estrato de espermatocitos es el más abundante. Los espermatocitos no forman un estrato compacto, apareciendo numerosos claros entre las células. La luz folicular suele ser grande. En ocasiones, se observan haces de espermatozoides en el centro de los folículos y restos de material degradado y células “basura” (fig. 18E).

**Recuperación:** Folículos gonadales compactos. Espermatogonias en el estrato basal y el resto del folículo ocupado por espermatocitos; no se observan espermatozoides. Luz folicular escasa o ausente. En ocasiones se observan “células basura” remanentes de un ciclo anterior.

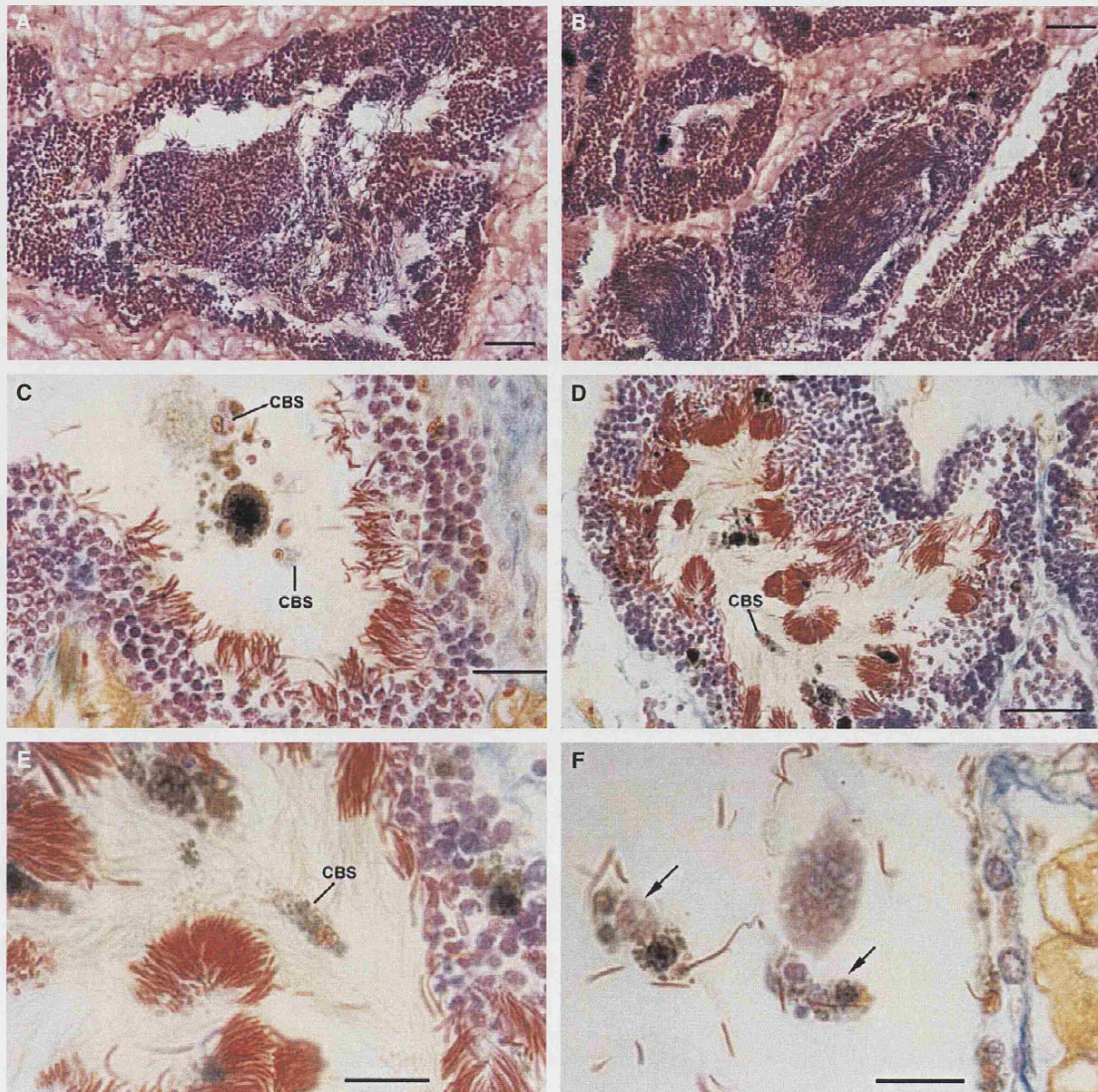
### **Observaciones mensuales de la evolución y desarrollo gonadal. Análisis histológicos**

Con el fin de poder describir la anatomía de la gónada así como su desarrollo, diferenciación sexual, maduración y evolución gonadal, se escogieron ejemplares que integraran casi todas las clases de tamaño a lo largo de un año (septiembre de 1994-septiembre de 1995) (tabla 2). Como se puede observar, los ejemplares entre 10-14 mm han resultado muy interesantes para poder establecer los distintos tamaños de maduración de las dos líneas germinales. Una vez establecido el tamaño de maduración de cada fracción genital, ha aportado mucha información cortar cada mes ejemplares (ya maduros) de distintos tamaños con el fin de poder determinar el ciclo sexual de la especie.

En la tabla 4 se detalla toda la información de cada ejemplar, el mes de captura, el número de identificación, su longitud en mm, el estado de la fracción femenina, el de la masculina y la temperatura del agua.

A continuación se hacen unos pequeños comentarios sobre algunos ejemplares que pueden ser aclaratorios para una mejor comprensión de las tablas 4, 5 y 6.





**Fig 18: Estados gonadales. Línea masculina (continuación).** A y B) Estado de evacuación, se observa en la luz folicular una mezcla desordenada de espermatozoides como consecuencia del arrastre evacuatorio. C) Folículo evacuado, la flecha indica las células basura. D) Folículo evacuado / Premaduro. E y F) Células basura (flecha) en folículos gonadales evacuados. Tinción H-E: A, B y F. Tinción de Azán: C, D y E. Escalas: 50  $\mu$ m (A, B y D), 30  $\mu$ m (C), 20  $\mu$ m (E y F).

SEPTIEMBRE 1994. El individuo número 1 tiene una proporción muy elevada de folículos masculinos en estado maduro y evacuando, apareciendo de manera aislada ovocitos en estado premaduro (de pequeño tamaño, formas irregulares y pedunculados). No se ha observado ningún folículo estrictamente femenino.

OCTUBRE 1994. Es destacable el ejemplar 2 debido a que es el único individuo hembra encontrado en el estudio. El ejemplar 4 tiene la gónada femenina básicamente premadura, aunque con una fracción importante de ovocitos maduros libres en los folículos.

**Tabla 4:** Estado gonadal de los ejemplares estudiados histológicamente. Abreviaturas: **Ej:** número de ejemplar. Estados gonadales. **Prem:** pre-maduro. **Mad:** maduro. **Sex Indif:** gónada con sexo indiferenciado. **T°:** temperatura del agua.

MESES	Ej/L (mm)	Femenina	Masculina	T°
<b>Sept. 94</b> <b>21/9/94</b>	(1) 22,59	Prem. (aislada)	Mad/evacuando	18.6 °C
	(2) 19,69	Mad/evacuando	Mad/evacuando	
	(3) 19,19	Prem/evacuada	Mad/evacuando	
	(4) 15,83	Prem/evacuada	Mad/evacuando	
	(5) 14,85	Mad/evacuando	Mad/evacuando	
	(6) 14,09	Mad/evacuando	Prem temprana	
<b>Oct</b> <b>23/10/94</b>	(1) 19,76	Mad/evacuando	Mad/evacuando	16.9 °C
	(2) 18,97	Mad/evacuando	-	
	(3) 11,20	Premadura	Inmadura	
	(4) 10,41	Premadura	Prem temprana	
<b>Nov</b> <b>22/11/94</b>	(1) 22,15	Mad/evacuando	Mad/evacuando	13.2 °C
	(2) 21,49	Mad/evacuando	Mad/evacuando	
	(3) 20,26	Prem/evacuada	Prem/evacuada	
	(4) 18,12	Mad/evacuando	Mad/evacuando	
	(5) 15,85	Premadura	Recuperación	
	(6) 13,20	Prem avanzada	Prem temprana	
	(7) 12,62	Mad/evacuando	Prem avanzada	
	(8) 10,04	Madura	Prem avanzada	
<b>Dic</b> <b>13/12/94</b>	(1) 21,45	Premadura	Prem temprana	12.7 °C
	(2) 17,28	Premadura	Prem temprana	
	(3) 13,89	Mad/evacuando	Prem avanzada	
	(4) 8,30	Inmadura	Inmadura	
<b>Dic</b> <b>27/12/94</b>	(1) 20,97	Mad/evacuando	Mad/evacuando	9.8 °C
	(2) 20,47	Mad/evacuando	Mad/evacuando	
	(3) 18,95	Mad/evacuando	Mad/evacuando	
	(4) 14,44	Prem/evacuada	Evacuada	
	(5) 1,70	Sex Indif	Sex indif	
	(6) 1,30	Sex indif	Sex indif	
<b>Enero. 95</b> <b>24/1/95</b>	(1) 15,39	Mad/evacuando	Evacuada	9.5 °C
	(2) 14,01	Mad/evacuando	Evacuada	
	(3) 11,97	Mad/evacuando	Inmadura	
	(4) 2,70	Sex indif	Sex indif	
	(5) 2,40	Sex indif	Sex indif	
<b>Febrero</b> <b>22/2/95</b>	(1) 25,60	Mad/evacuando	Mad/evacuando	11.2 °C
	(2) 22,45	Prem/evacuada	Prem/evacuada	
	(3) 19,56	Prem/evacuada	Prem/evacuada	
	(4) 18,34	Mad/evacuando	Mad/evacuando	
	(5) 18,00	Prem (aislada)	Mad/evacuando	
	(6) 13,76	Prem/evacuada	Prem/evacuada	
	(7) 9,56	Inmadura	Inmadura	

Tabla 4: Continuación.

MESES	Ej/L (mm)	Femenina	Masculina	T*
<b>Marzo</b> <b>15/3/95</b>	(1) 23,53	Prem/evacuada	Prem/evacuada	10.3 °C
	(2) 21,70	Mad/evacuando	Evacuada	
	(3) 18,63	Mad/evacuando	Madura	
	(4) 17,92	Mad/evacuando	Madura	
	(5) 15,37	Premadura	Prem avanzada	
	(6) 13,30	Mad/evacuando	Prem temprana	
	(7) 9,56	Inmadura	Inmadura	
<b>Abril</b> <b>4/4/95</b>	(1) 23,43	Evacuada	Prem/evacuada	14.2 °C
	(2) 22,19	Prem/evacuada	Recuperación	
	(3) 18,91	Madura	Recuperación	
	(4) 17,46	Madura	Recuperación	
	(5) 14,40	Madura	Inmadura	
	(6) 12,81	Madura	Inmadura	
<b>Mayo</b> <b>3/5/95</b>	(1) 22,25	Mad/evacuando	Premadura	16.6 °C
	(2) 19,46	Mad/evacuando	Premadura	
	(3) 17,36	Mad/evacuando	Premadura	
	(4) 16,22	Mad/evacuando	Premadura	
	(5) 13,92	Madura	Inmadura	
	(6) 9,74	Madura	Inmadura	
	(7) 7,08	Inmadura	Inmadura	
<b>Junio</b> <b>7/6/95</b>	(1) 23,29	Mad/evacuando	Mad/evacuando	19.5 °C
	(2) 20,04	Mad/evacuando	Mad/evacuando	
	(3) 18,08	Ovoc. aislados	Mad/evacuando	
	(4) 15,86	Premadura	Prem temprana	
	(5) 13,49	Prem avanzada	Prem temprana	
	(6) 9,84	Premadura	Prem temprana	
	(7) 8,20	Inmadura	Inmadura	
	(8) 6,44	Premadura	Prem temprana	
<b>Julio</b> <b>11/7/95</b>	(1) 21,50	Mad/evacuando	Mad/evacuando	20.1 °C
	(2) 18,92	Mad/evacuando	Mad/evacuando	
	(3) 16,84	Mad/evacuando	Mad/evacuando	
	(4) 12,60	Prem avanzada	Premadura	
	(5) 10,00	Premadura	Premadura	
	(6) 7,31	Sex indiferen	Sex indiferen	
<b>Agosto</b> <b>1/8/95</b>	(1) 22,51	Mad/evacuando	Mad/evacuando	21.8 °C
	(2) 19,08	Mad/evacuando	Mad/evacuando	
	(3) 11,56	Mad/evacuando	Mad/evacuando	
	(4) 8,08	Inmadura	Prem temprana	
	(5) 6,17	Inmadura	Inmadura	

Tabla 4: Continuación.

MESES	Ej/L (mm)	Femenina	Masculina	T*
<b>Agosto</b> 17/8/95	(1) 17,46	Mad/evacuando	Mad/evacuando	21.8 °C
	(2) 15,97	Prem/evacuada	Madura/evacuada	
	(3) 12,48	Mad/evacuando	Premadura	
<b>Sept</b> 12/9/95	(1) 24,26	Evacuada	Mad/evacuando	20.8 °C
	(2) 21,06	Evacuada	Mad/evacuando	
	(3) 17,55	Mad/evacuando	Mad/evacuando	
	(4) 15,90	Mad/evacuando	Mad/evacuando	
	(5) 12,92	Mad/evacuando	Mad/evacuando	
	(6) 10,97	Premadura	Inmadura	
	(7) 7,41	Inmadura	Inmadura	

NOVIEMBRE 1994. Los ejemplares mayores de 15 mm presentan sincronía en el estado de ambas líneas germinales. En los individuos menores o iguales a 20 mm la fracción genital masculina es escasa.

DICIEMBRE 1994. Este mes se cortaron diez ejemplares correspondientes a dos capturas diferentes: 13/12/1994 y 27/12/1994. En cada ejemplar de ambas capturas se observa sincronía en el estado de ambas líneas germinales.

ENERO 1995. En los dos ejemplares mayores la fracción femenina es más abundante que la masculina. El tamaño de los ovocitos evacuados es de 95  $\mu$ m. En los ejemplares 1 y 2 la fracción masculina es escasa mientras que la proporción entre ambas gónadas se mantiene similar en el ejemplar 3. Es destacable la diferencia de estado entre las dos líneas germinales del ejemplar 3, mientras que la femenina está madura y en estado de evacuación, la masculina se encuentra totalmente inmadura.

FEBRERO 1995. El ejemplar 5 es un hermafrodita preferentemente macho. Prácticamente todo el área gonadal está ocupada por folículos masculinos, en estado parcialmente evacuado en el extremo dorsal, y en estado maduro no evacuado en una zona más ventral. En 108 secciones se han observado aproximadamente 50 ovocitos premaduros. Resalta en el ejemplar 6 la diferencia de estado de la fracción masculina, en su extremo más dorsal está premadura temprana, mientras que en cortes más ventrales los folículos están evacuados.

MARZO 1995. El ejemplar 5 es hermafrodita preferentemente macho, con la fracción masculina en estado prematuro avanzado. Se han observado 35 ovocitos premaduros en 126 secciones. El individuo 2 presenta una proporción de gónada masculina muy escasa, se considera hermafrodita preferentemente hembra.

ABRIL 1995. Los individuos 3, 4, 5 y 6 tienen los folículos femeninos maduros, no habiendo comenzado el proceso evacuatorio (por encontrarse los folículos totalmente compactos).



**Tabla 5:** Resultados de los frotis de folículos masculinos en ejemplares de tamaño  $\leq 13$  mm. En las dos primeras columnas los ejemplares no tienen la fracción genital masculina madura (**No spz**: la fracción genital masculina no tiene espermatozoides. **No Fec. Pot. (sí spz)**: la fracción masculina presenta espermatozoides pero no está madura). En la tercera columna los ejemplares tienen la fracción masculina madura (**Sí Fec. Pot.**).

Meses	No Fec. Pot. (No spz)	No Fec. Pot. (Sí spz)	Sí Fec.Pot.
	L (mm)	L (mm)	L (mm)
<b>Oct (4/10/94)</b> <b>17,9 °C</b>	13.41 12.65 11.67 10.27 9.93 9.68	13.92 12.21 11.40 10.75	
<b>Feb. (22/02/95)</b> <b>11,2 °C</b>	11.27 10.59 10.34 9.74 9.54 7.19	13.64 12.49	
<b>May (2/05/95)</b> <b>15 °C</b>	13.12 12.50 12.40 11.61 11.04 10.91 10.28 10.08		
<b>Jul. (11/07/95)</b> <b>20,1 °C</b>	10.64 9.79	12.08 11.64 11.14 10.58	13.55 11.49

Las tallas de los ovocitos maduros varían entre 92-99  $\mu\text{m}$ . Los individuos 3 y 4 se consideran hermafroditas preferentemente hembras, tienen la fracción masculina muy escasa e inmadura, siendo el estrato de espermatozoides el dominante. El ejemplar 2 es muy peculiar, pues la gónada es muy abundante y presenta proporciones similares de ambos sexos. Los folículos femeninos de la fracción más dorsal están prácticamente evacuados, mientras que, en la zona ventral la evacuación ha sido menor y presenta un remanente de ovocitos premaduros. Los folículos masculinos se presentan evacuados en la zona dorsal pero con un remanente de espermatozoides alto, y en la zona ventral están fundamentalmente en estado de recuperación, con folículos compactos. En los individuos 5 y 6 observamos asincronía en el estado de ambas líneas germinales, la femenina está madura mientras que la masculina todavía permanece inmadura.

**MAYO 1995.** Es destacable que en todos los ejemplares difieren los estados gónadales femeninos y masculinos. Los ejemplares (1, 2, 3, 4 y 5) presentan la fracción femenina madura y los cuatro primeros en estado de evacuación. El diámetro medio de los ovocitos maduros es de aproximadamente 106-107  $\mu\text{m}$ . En el ejemplar 5 no ha comenzado el proceso de evacuación. La línea germinal masculina no está madura en ningún ejemplar. El

**Tabla 6:** Resultados de los frotis de folículos masculinos de ejemplares  $\geq 18$  mm. La primera columna muestra los ejemplares con la fracción genital masculina madura (**Sí Fec. Pot.**). La segunda columna presenta los ejemplares con la fracción masculina no madura (**No Fec. Pot.**). El asterisco (\*) señala los ejemplares sin espermatozoides.

	Sí Fec.Pot.	NO Fec. Pot.		Sí Fec.Pot.	NO Fec. Pot.
Mes	L (mm)	L (mm)	Mes	L (mm)	L (mm)
Sept. (21/09/94) 18,6 ° C	28.32		Dic. (27/12/94) 9,8 ° C	27.12	20.96
	25.69			25.21	22.46 (*)
	25.23			24.02	
	24.23			23.72	
	22.60			21.86	
	21.19			21.40	
	20.50			20.70	
	20.41			20.50	
	19.92			20.50	
	19.74			20.33	
Oct. (4/10/94) 17,9 ° C	19.61		Febr.(2/02/95) 10,8 ° C	31.15	25.75
	18.76			29.05	21.79
				24.36	
				22.89	
				22.26	
				22.21	
				21.94	
				21.12	
			Febr.(22/02/95) 11,2 ° C	20.75	
				19.00	
				25.34	23.51
				25.02	23.21
				24.62	19.09
				24.40	18.27
Nov. (7/11/94) 14,5 ° C	28.84	20.73	Marzo (15/03/95) 10,3 ° C	23.18	26.51
	26.94	19.85		22.38	22.92 (*)
	24.47	19.15		21.65	21.38
	24.36	18.69 (*)		20.32	21.00
	21.29			19.64	20.78
	20.98				19.19
	20.62				18.48
Dic. (13/12/94) 12,7 ° C	19.34		Abril (4/04/95) 14,2 ° C	29.13	24.14
		27.45		26.43	20.49
		22.30 (*)		25.10	20.05
		22.02 (*)		23.58	19.96
		19.65 (*)		22.00	18.60
		19.27			

Tabla 6: *Continuación.*

	Sí Fec.Pot.	NO Fec. Pot.		Sí Fec.Pot.	NO Fec. Pot.
Meses	L (mm)	L (mm)	Meses	L (mm)	L (mm)
<b>Mayo (2/05/95)</b> <b>15 ° C</b>	23.20 22.76 21.53	24.13 23.34 22.64 22.32 22.26 21.65 21.23 20.94 19.92 (*)	<b>Sept.(12/09/95)</b> <b>20,8 ° C</b>	29.85 28.70 27.40 25.49 24.11 24.10 23.34 23.32 22.66 20.82	22.87
<b>Junio (7/06/95)</b> <b>19,5 ° C</b>	27.08 25.07 23.98 23.76 23.08 22.86 22.57 22.11 21.98 21.76 21.45 19.91				
<b>Julio (11/07/95)</b> <b>20,1 ° C</b>	24.57 24.44 24.32 23.60 23.20 23.12 22.45 22.15 21.17 20.02	25.53 18.33			
<b>Agosto (17/8/95)</b> <b>21,8 ° C</b>	28.81 27.00 26.20 25.64 24.74 23.62 22.77 22.54 21.73 21.43	26.13 21.07			

ejemplar 6 presenta la fracción femenina prácticamente madura (el diámetro medio de los ovocitos es de 91-95  $\mu\text{m}$ ) y la masculina es muy escasa y totalmente inmadura. El ejemplar 7 es inmaduro. Los ovocitos no superan diámetros de 48-50  $\mu\text{m}$ .

JUNIO 1995. Cuatro ejemplares mayores de 10 mm presentan los folículos femeninos y masculinos prácticamente en el mismo estado. El ejemplar 3 es hermafrodita preferentemente macho, con un número tan bajo de ovocitos que no se puede catalogar el estado de la fracción femenina. Los individuos 6 y 8 presentan la fracción femenina básicamente premadura observando algunas diferencias entre ellos: el ejemplar 6 tiene una pequeña proporción de ovocitos ya maduros y el resto de la gónada se mantiene premadura, mientras que el 8 tiene la gónada más uniforme y en un estado más avanzado de maduración, con ovocitos de tallas de aproximadamente 80  $\mu\text{m}$ . Ambos ejemplares tienen los folículos masculinos en estado fundamentalmente inmaduro (premaduro temprano) aunque se observan algunos espermatozoides en el centro de algunos folículos. El ejemplar 8 es el individuo más pequeño observado con espermatozoides.

JULIO 1995. Se puede observar que existe sincronía en los estados de ambas fracciones genitales en cada ejemplar. De los cuatro ejemplares mayores, difiere ligeramente el número 4, que presenta parte de la línea femenina premadura (con ovocitos poligonales y pedunculados) y parte madura con ovocitos de diámetros de 102  $\mu\text{m}$ , algunos evacuados en la zona del gonoducto. La fracción masculina es abundante en los ejemplares 1 y 2 y escasa en el 3 y en el 4.

AGOSTO 1995. Este mes se cortaron ejemplares pertenecientes a dos capturas diferentes.

Captura 1/08/1995. Observamos sincronía en el estado de maduración de ambas fracciones genitales en cada individuo. En los ejemplares 1 y 2, la fracción masculina es abundante y el proceso evacuatorio acaba de comenzar. El ejemplar 3 representa el individuo más pequeño con la fracción masculina madura. Los ejemplares 4 y 5 son inmaduros. En el ejemplar 5 la gónada es muy escasa y está compuesta por folículos muy finos distribuidos dorsoventralmente en la zona posterior. El ejemplar 4 tiene ovocitos vitelogénicos de pequeño tamaño, mientras que en el 5 sólo se aprecian ovocitos previtelogénicos. En ambos la línea germinal masculina está compuesta fundamentalmente por espermatozoides.

Captura 17/08/1995. En el ejemplar 1, la fracción masculina es abundante y el proceso evacuatorio acaba de comenzar. El individuo 2 presenta la fracción masculina escasa y básicamente evacuada.

SEPTIEMBRE 1995. Los ejemplares menores o iguales a 20 mm presentan proporcionalmente mayor cantidad de folículos femeninos siendo los masculinos muy escasos, mientras que en los individuos de tamaños superiores es abundante la fracción masculina. El ejemplar 1 muestra una tendencia hacia la condición de macho debido a que la mayor parte del área gonadal está ocupada por folículos masculinos quedando relegada los escasos folículos femeninos a la zona medio-anterior. El individuo 7 es inmaduro con una góna-

da muy escasa donde se diferencian espermatoцитos y ovocitos que no superan tamaños de 31  $\mu\text{m}$ .

Como resumen de estos resultados se puede destacar lo siguiente:

Se han observado individuos que presentan la fracción femenina evacuada pero que mantienen un importante remanente de ovocitos en estado premaduro situados en la periferia folicular. Estos ejemplares pertenecen a los meses siguientes: septiembre (2 individuos), noviembre (1), diciembre (1), febrero (3), marzo (1) y agosto (1). Tres individuos presentan la fracción femenina completamente evacuada, (con la pared folicular sin este estrato ovocitario), estos individuos pertenecen al mes de abril (un ejemplar) y a septiembre (dos individuos).

Los resultados histológicos muestran que de noviembre a marzo es cuando se concentra un número mayor de individuos (un total de 11) con la totalidad o con parte (de forma más habitual) de la fracción masculina evacuada. Estos individuos, mantienen un grueso estrato de espermatoцитos y espermatoгонias en la pared folicular. Este estado ha sido observado en: noviembre (1 ejemplar), diciembre (1), febrero (4) y abril (1). Han sido observados dos individuos (un ejemplar de enero y otro de marzo) con la gónada completamente evacuada. Los ejemplares observados de abril y mayo de 1995 tienen la gónada masculina prácticamente inmadura. En abril casi todos tienen los folículos en estado de recuperación, y en mayo, en estado premaduro con haces de espermatozoides pero todavía en número escaso.

### **Frotis de folículos masculinos**

Con el fin de establecer el ciclo sexual de la línea germinal masculina de *Corbicula fluminea*, se han contrastado los resultados del análisis histológico con el estudio de frotis de folículos masculinos.

En la tabla 3 se detallan los ejemplares a los que se ha efectuado frotis. Se han separado en dos tablas los resultados obtenidos: los de ejemplares menores o iguales a 13 mm (tabla 5) y los resultados de ejemplares mayores de 18 mm (tabla 6). Si como resultado del frotis se observa que la fracción genital masculina está madura (o premadura avanzada), el individuo es considerado un "fecundador potencial". El considerar a un ejemplar "fecundador potencial" no significa que en la gónada no se puedan observar espermatozoides, de ahí que se ha estimado adecuado reflejar con un (\*) los ejemplares que siendo superiores a 18 mm, no tienen espermatozoides en los folículos masculinos (tabla 6).

Combinando los resultados de histología (tabla 4) y frotis gonadales de individuos de longitudes inferiores a 14 mm (tabla 5), se examinaron un total de 65 ejemplares (tabla 7 y fig. 19) de los que 34 son individuos de longitudes comprendidas entre 11 y 13 mm. De ellos sólo aparecieron 4 ejemplares con la fracción genital masculina madura (fecundadores potenciales) y todos ellos en los meses de verano: dos ejemplares de 11 y 13 mm, ambos del mes de julio, un ejemplar de 11 mm (agosto) y otro de 12 mm (septiembre). Los

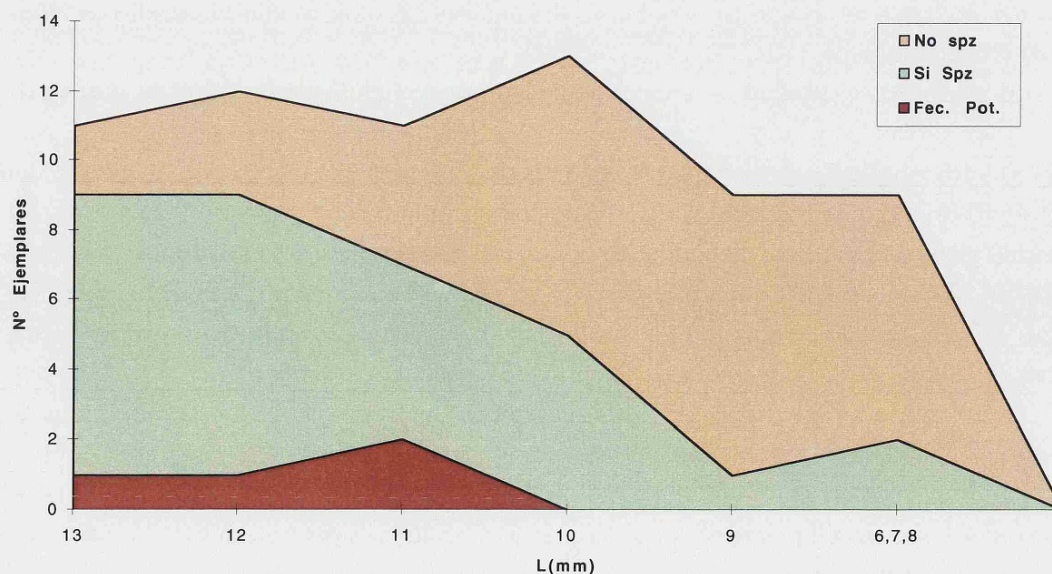
**Tabla 7:** Presencia / ausencia de espermatozoides en ejemplares  $\leq 13$  mm. En las columnas tres y cuatro los ejemplares no tienen la fracción genital masculina madura (**No spz**: la fracción genital masculina no tiene espermatozoides. **Sí spz**: la fracción masculina presenta espermatozoides pero no está madura). La última columna muestra los ejemplares con la fracción masculina madura (**Fec. Pot.**).

L (mm)	Examinados	No spz	Sí Spz	Fec. Pot.
13	11	2	8	1
12	12	3	8	1
11	11	4	5	2
10	13	8	5	0
9	9	8	1	0
6,7,8	9	7	2	0
<b>Total</b>	<b>65</b>	<b>32</b>	<b>29</b>	<b>4</b>

ejemplares mencionados son los individuos más pequeños con la línea germinal masculina madura, los dos primeros mencionados provienen de frotis sexuales (tabla 5) y los siguientes de histología (tabla 4). Por tanto, en los meses de verano hay una pequeña fracción de ejemplares de 11 a 13 mm (11,8%) que pudieran tener también la fracción masculina madura.

#### Resumen general: Maduración, evolución anual de la gónada y ciclo sexual

Como resumen general combinado de los resultados de histología y frotis se observa que los diferentes estados gonadales de los dos sexos no siguen una evolución mensual a lo largo del año. Se puede observar cada estado en cualquier mes y en un mes concreto ejemplares con diferentes estados gonadales.



**Fig. 19:** Presencia / ausencia de espermatozoides en individuos de tamaño  $\leq 13$  mm. Abreviaturas como en la Tabla 7.

## LÍNEA GERMINAL FEMENINA

Los individuos de longitudes comprendidas entre los 6-9 mm suelen presentar la gónada inmadura, aunque ambas líneas germinales sexualmente diferenciadas. No obstante, se ha observado un individuo de 6 mm (mes de junio), con los folículos femeninos en estado premaduro avanzado, representa el ejemplar más pequeño con la línea germinal femenina próxima a la maduración.

En los ejemplares de 9 mm, la línea germinal femenina se observa con ovocitos en estado premaduro avanzado y, en menor proporción, con ovocitos maduros a partir del mes de mayo. De manera habitual y durante todo el año, los ejemplares examinados de 10 mm presentan la fracción femenina en estado premaduro avanzado, con fracciones de ovocitos ya maduros, libres en los folículos.

Por lo general, se ha observado la fracción genital femenina madura en individuos de tamaños superiores o iguales a 11-12 mm. Por encima de estos tamaños se han encontrado individuos con la línea germinal femenina madura todos los meses del año (tabla 4).

Resumen del ciclo reproductivo: La línea germinal femenina tiene producción y evacuación de ovocitos continua durante todos los meses del año.

## LÍNEA GERMINAL MASCULINA

Como se ha mencionado los individuos entre 6-9 mm suelen tener la gónada totalmente inmadura, aunque ambas líneas germinales sexualmente diferenciadas; no obstante, se ha observado un ejemplar de 6 mm de junio, que presenta espermatozoides, aunque son muy escasos. Es el ejemplar más pequeño encontrado con espermatozoides.

Se han observado individuos de 10 y 11 mm con espermatozoides, siendo frecuente su presencia en ejemplares por encima de 12 mm. De manera habitual, se encuentran individuos entre 10-13 mm con espermatozoides, pero éstos son escasos, es decir, la fracción genital masculina está en general en estado premaduro (tabla 7).

La línea germinal masculina de *Corbicula fluminea* en el río Miño madura en ejemplares por encima de los 14-15 mm, observándose individuos de esta talla con los folículos masculinos maduros (fecundadores potenciales) todos los meses del año (tabla 8, fig. 20). Se observan diferencias mensuales en cuanto a abundancia de individuos maduros. Durante los meses de septiembre y octubre de 1994 y junio, julio, agosto y septiembre de 1995 entre el 80% y el 100% de los ejemplares presentan la fracción genital masculina madura. Entre noviembre de 1994 y febrero de 1995 el 71% aproximadamente de los individuos la tienen madura y el porcentaje de individuos con la fracción masculina madura desciende de marzo a mayo a un 31% aproximadamente, registrándose un mínimo de un 19% de ejemplares con la línea germinal masculina madura durante el mes de mayo de 1995.

Resumen del ciclo reproductivo: La línea germinal masculina tiene producción y evacuación de espermatozoides durante todos los meses del año, aunque varía la proporción de ejemplares con la gónada masculina madura según los meses. Los ejemplares con la fracción masculina madura son muy abundantes durante los meses de verano y hasta octubre, descendiendo su presencia a partir de noviembre y registrándose un porcentaje mínimo en abril y mayo.

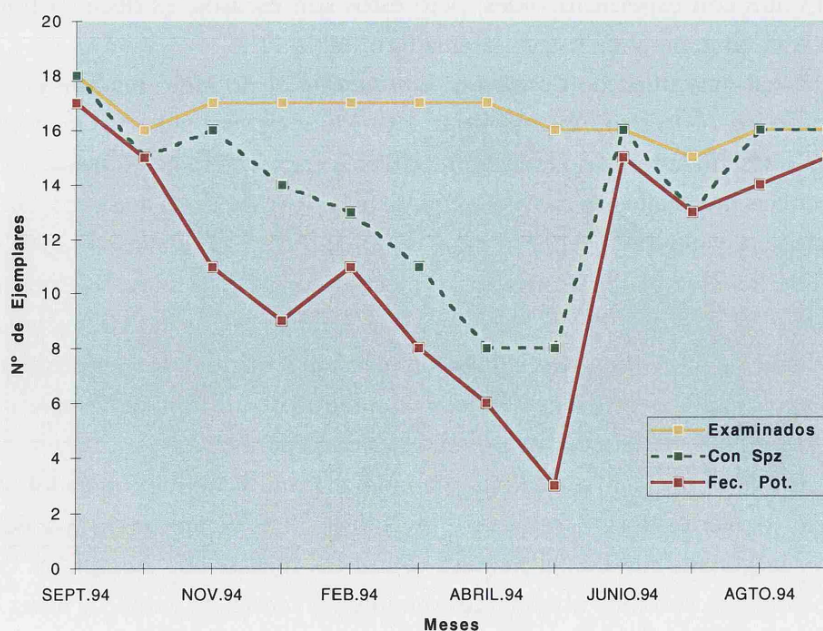


**Tabla 8:** Estado de la fracción masculina en ejemplares  $\geq 18$  mm. La tercera columna muestra ejemplares con espermatozoides pero con la fracción masculina todavía inmadura (**Con Spz**) y la última columna muestra los ejemplares con la fracción masculina madura (**Fec. Pot.**).

MESES	Examinados	Con Spz	Fec. Pot.
SEPT.94	18	18	17
OCT.94	16	15	15
NOV.94	17	16	11
DIC.94	17	14	9
FEB.94	17	13	11
MARZO.94	17	11	8
ABRIL.94	17	8	6
MAYO.94	16	8	3
JUNIO.94	16	16	15
JULIO.94	15	13	13
AGTO.94	16	16	14
SEPT.94	16	16	15
<b>TOTAL</b>	<b>198</b>	<b>164</b>	<b>137</b>

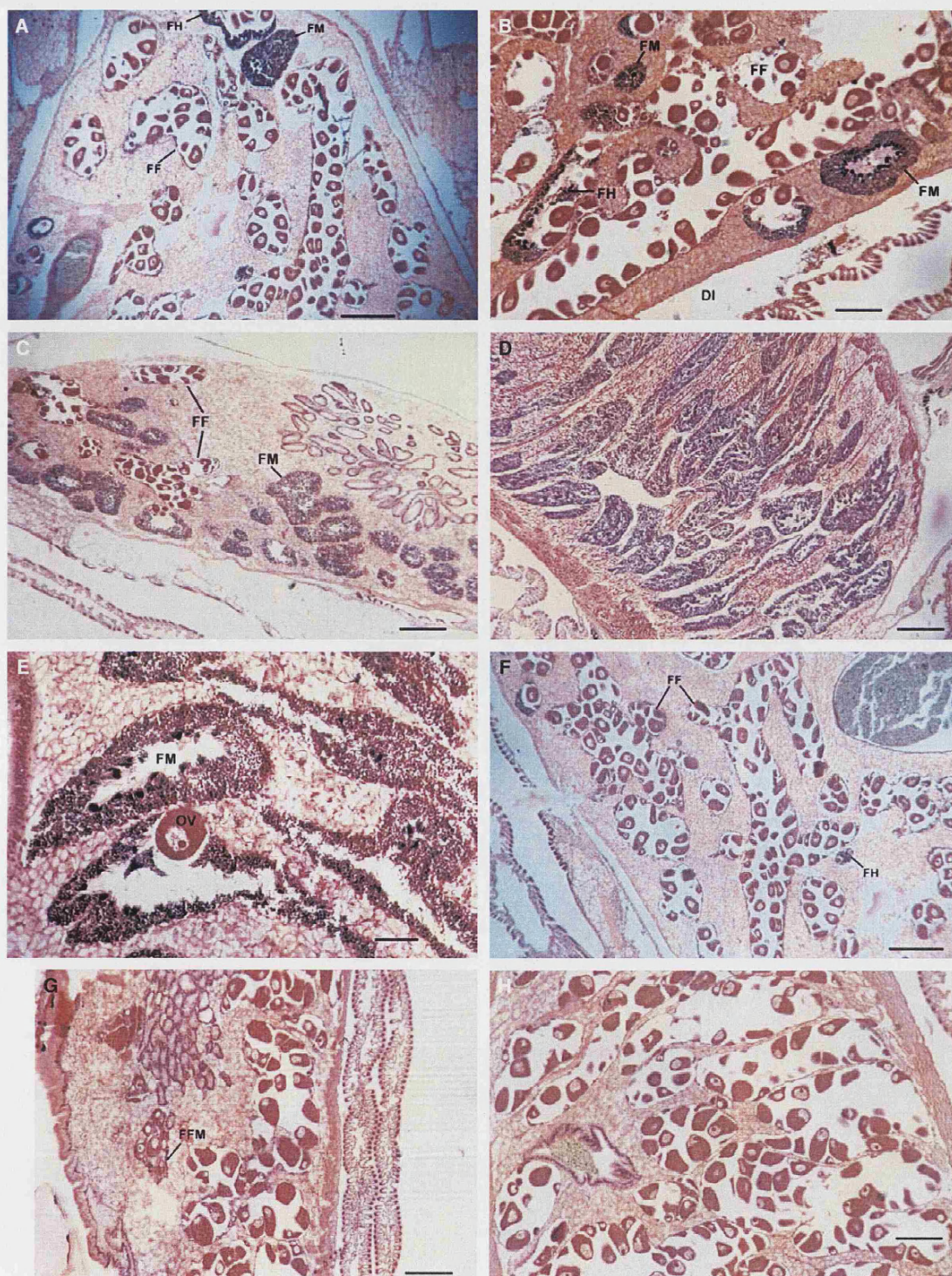
### Proporciones foliculares

Se ha observado, tanto en el estudio histológico como en los frotis que, por lo general, los ejemplares de tamaños inferiores a 18-19 mm suelen tener proporciones mayores de folículos ovogénicos y, con frecuencia, proporciones comparativamente escasas de folículos espermatogénicos (figs. 21A, 21B).



**Fig. 20:** Ejemplares  $\geq 18$ mm considerados fecundadores potenciales en el periodo comprendido entre septiembre 1994 y septiembre 1995.





**Fig 21: Proporciones gonadales.** A y B) Sección histológica de gónada que muestra proporciones mayores de folículos femeninos. C) Gónada con proporciones ligeramente superiores de folículos masculinos. D y E) Gónada de ejemplares hermafroditas preferentemente machos. F y G) Gónada de ejemplares hermafroditas preferentemente hembras. H) Ejemplar hembra. Tinción H-E: A-G. Escalas: 200  $\mu$ m (A-D, F-H), 50  $\mu$ m (E).

Por encima de esos tamaños, entre 18 y 23 mm, los folículos espermatoogénicos aumentan su presencia y, en ocasiones, se presentan en proporciones similares (fig. 21C) y/o en proporciones mayores a los folículos ovogénicos (figs. 21D, 21E).

Aunque en individuos superiores a 18 mm, fundamentalmente existe un predominio de ejemplares con mayor proporción de folículos femeninos en la gónada, a medida que aumenta el tamaño del individuo se incrementa el número de ejemplares con mayor cantidad de folículos masculinos (tabla 9A). En todos los tamaños se mantiene que el 50% de los individuos aproximadamente, tiene mayor cantidad de folículos femeninos en la gónada (tabla 9B). En el rango entre 18 y 21 mm, los ejemplares con proporciones mayores de folículos masculinos componen el grupo minoritario (12%), y el resto lo conforman individuos que presentan proporciones similares de ambos folículos (38,6%) (tabla 9B). En longitudes entre 22 y 25 mm, aumentan los individuos con mayor cantidad de folículos masculinos en la gónada hasta un 23%, porcentaje que sigue aumentando en longitudes superiores a 26 mm (36%) en detrimento de los individuos con proporciones de ambos folículos similares, que a estos tamaños corresponden a un 9% (tabla 9B, fig. 22).

En la relación de todos los ejemplares estudiados, se han encontrado 14 ejemplares hermafroditas que son preferentemente machos (HEARD, 1975) (cinco proceden de histología y nueve de frotis), repartidos a lo largo del año estudiado. En ellos, el área gonadal está prácticamente compuesta por folículos masculinos en los que se observan ovocitos de manera aislada (figs. 21D, 21E, 21F). No se ha observado ningún ejemplar que presentara la gónada compuesta exclusivamente por folículos masculinos.

Se ha encontrado un individuo hembra, ejemplar de octubre (18 mm) de histología, con la gónada compuesta únicamente por folículos femeninos (fig. 21H).

Se han observado un total de 19 ejemplares hermafroditas preferentemente hembras (fig. 21G); éstos presentan el área gonadal ocupada por folículos femeninos, observándose aisladamente pequeños grupos de células de la línea sexual masculina. Tres ejemplares proceden de histología y el resto de frotis.

## FECUNDACIÓN

En los estudios macroscópicos se ha visto que la fecundación se produce habitualmente en las demibranchias internas pero, gracias al análisis histológico, se han observado también fenómenos de fecundación en la región del gonoducto y en los folículos gonadales.

Por ello, distinguimos entre aquellos embriones que resultan de la fecundación de los óvulos en las demibranchias internas o “embriones intrabranquiales” y los resultantes de la fecundación de los óvulos en los folículos gonadales o “embriones intrafolículos”. Los “embriones intragonoducto” representan una situación más peculiar y no en todos los casos se puede explicar su origen. Dichos embriones, bien pueden ser embriones intrafolículos arrastrados desde los folículos gonadales, o bien se han originado en la región del gonoducto. En ambos casos serían fruto de procesos de autofecundación (unión de los gametos del mismo individuo).



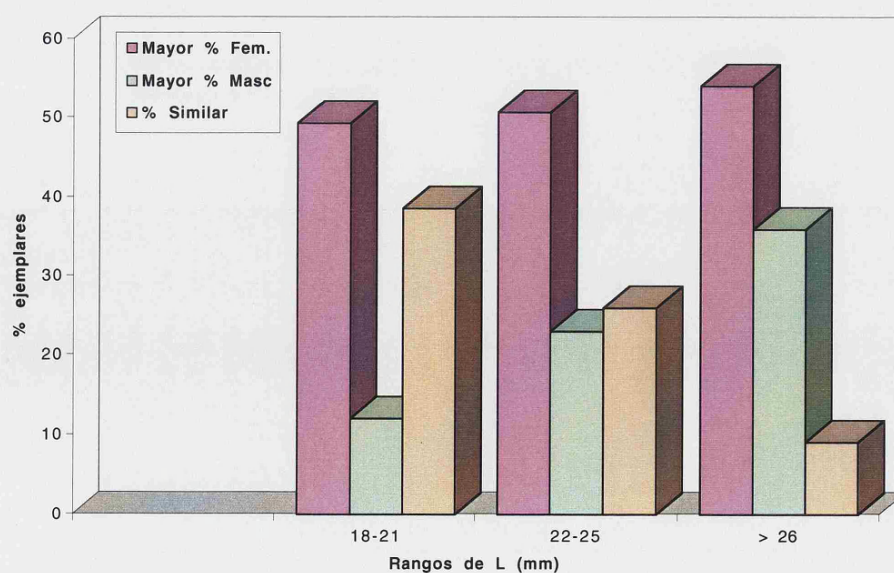
**Tabla 9:** 9A): Proporciones foliculares en la gónada de ejemplares de *Corbicula fluminea* de tamaño  $\geq 18$  mm; 9B) Proporciones foliculares en tres rangos de tamaño (18-22 mm, 22-25 mm,  $>26$  mm) en ejemplares de tamaño  $\geq 18$  mm. **Mayor Fol. Fem.:** Número de ejemplares con mayor proporción de folículos femeninos en la gónada. **Mayor Fol. Masc.:** Número de ejemplares con la proporción de los folículos masculinos superior a la de los femeninos. **Similar:** La presencia de ambos folículos se mantiene similar en la gónada.

Tabla 9A

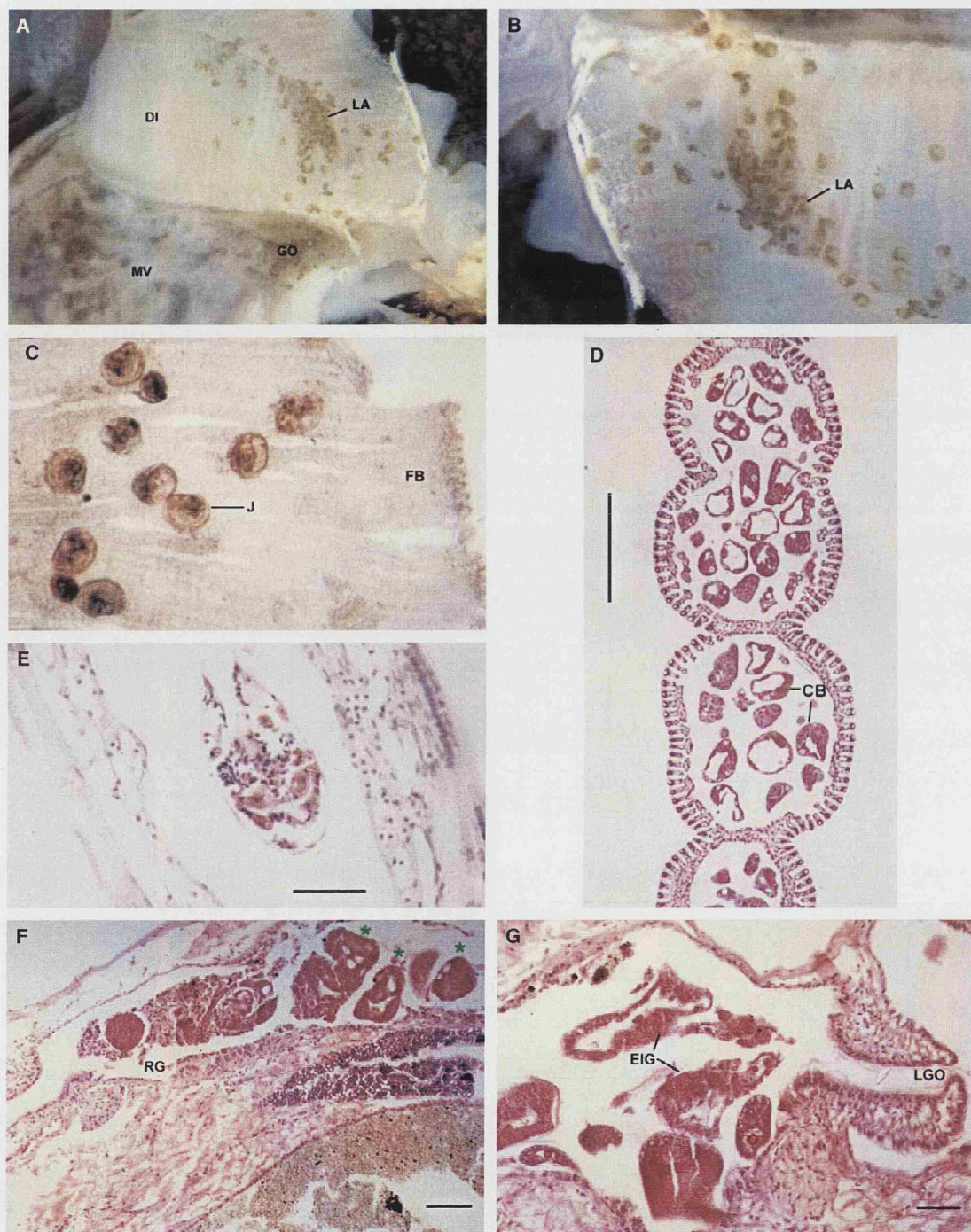
L (mm)	Mayor fol. Fem.	Mayor fol. Masc	Propor. Similar	Total
18	4	1	3	8
19	14	4	7	25
20	10	2	10	22
21	9	2	9	20
22	13	3	7	23
23	10	5	3	18
24	8	4	4	16
25	4	4	4	12
> 26	12	8	2	22
Total	84	33	49	166

Tabla 9B

L (mm)	Mayor % Fem.	Mayor % Masc	% Similar
18 - 21	49.3%	12%	38.6%
22 - 25	50.7%	23%	26%
> 26	54%	36%	9%



**Fig. 22:** Proporciones foliculares (masculina, femenina y similar) en la gónada de *Corbicula fluminea* en relación con el tamaño de los ejemplares.



**Fig. 23: Embriones y larvas branquiales de *Corbicula fluminea*.** A, B y C) Demibranchia interna abierta con juveniles. D) Sección histológica de un juvenil incubado en la demibranchia interna. E) Sección longitudinal de la demibranchia interna con celoblastulas en su interior. F) Embriones en la región del gonoducto. G) Embriones en la región del gonoducto próximos a los labios del gonoporo. Tinción H-E: D-G. Escalas: 200  $\mu\text{m}$  (E), 50  $\mu\text{m}$  (D, F, G).



En la mayoría de los ejemplares maduros se han observado ovocitos maduros no fecundados en la región del gonoducto y, más frecuentemente, en la cámara suprabranquial de las dos demibranquias internas (fig. 10F).

## GRAVIDEZ

Se habla de "gravidez" para describir el estado de los ejemplares con embriones (cigotos, blástulas y gástrulas) y/o larvas en las demibranquias internas (embriones y/o larvas intrabranquiales) (figs. 23A-E).

Gracias al "experimento de fecundación y desarrollo larvario" realizado entre agosto de 1994 y septiembre de 1995 (véase tabla 10), se obtuvieron datos de fecundación, gravidez y desarrollo larvario de *C. fluminea* en el área de estudio.

Conjugando los resultados procedentes del experimento de fecundación (tabla 10), de las observaciones histológicas (tabla 11) y de disecciones de branquias de los ejemplares a los que se realizó frotis, se han obtenido los datos que se muestran en las tablas 12A y 12B.

En el periodo comprendido entre agosto de 1994 y septiembre de 1995 se han observado ejemplares con embriones y/o larvas branquiales durante los meses de: agosto, septiembre, octubre y noviembre de 1994, abril, mayo, junio, julio, agosto y septiembre de 1995. No se han observado ejemplares grávidos en los individuos cortados de los meses de abril y mayo de 1995 (tabla 11), por lo que la gravidez de estos meses pertenece a los ejemplares procedentes del experimento de fecundación (tabla 10), en donde se observaron cinco ejemplares (tres de abril y dos de mayo) con embriones y larvas intrabranquiales que se encontraban en los primeros estadios de desarrollo larvario (zigotos, mórulas y larvas trocóforas). En los meses restantes (agosto, septiembre, octubre y noviembre de 1994 y en junio, julio agosto y septiembre de 1995), se encontraron individuos que además presentaban fases avanzadas del desarrollo larvario (pedivelígeras y/o juveniles D). En las capturas del experimento de fecundación pertenecientes a diciembre de 1994, se han observado tres ejemplares con un total de cinco huevos o zigotos, y durante este mes, no se ha observado en ningún ejemplar división embrionaria ni desarrollo larvario posterior.

El ejemplar más pequeño encontrado con larvas en el interior de las branquias mide 10,7 mm y procede de la captura del mes de agosto de 1994 del experimento de fecundación (tabla 10 y 12A); el ejemplar grávido más pequeño de las observaciones histológicas es del mes de junio y talla 13,5 mm (tabla 11 y 12A) y el de menor longitud con larvas procedente de las disecciones es igualmente del mes de julio de 1995 y mide 11,7 mm (tabla 12A).

Se ha encontrado un total de diez ejemplares de tamaños inferiores a 14 mm (entre 10,7 y 13,99 mm) con larvas en branquia (grávidos). Seis de ellos proceden del experimento de fecundación, uno de observaciones histológicas y tres de disecciones (tabla 12A). Estos diez individuos corresponden a capturas de los siguientes meses: agosto, octubre, noviembre de 1994 y junio, julio y agosto de 1995. De estos diez individuos, dos de ellos tallan 10-

**Tabla 10:** Resultados del experimento de fecundación y desarrollo larvario. **Larvas Br.:** Larvas branquiales. **H:** Cigotos; **M:** Mórulas; **T:** trocófora; **V:** Velgera; **PD:** Pedivelgera; **D:** Juvenil en forma de "D"; **J:** juveniles de charnela recta.

18/8/94 Longitud 8.19	22.10 °C Larvas Br. No	21/9/94 Longitud 9.5	18.60 °C Larvas Br. No	4/10/94 Longitud 8.18	17.90 °C Larvas Br. No
9.78	No	12.30	No	9.65	No
10.35	No	14.24	2H, 1PV	11.12	No
10.69	VyD	15.78	No	13.39	No
10.80	No	16.66	TyV	15.00	T, V
10.85	No	19.10	VyD	15.74	T, V
14.35	TyV	19.30	TyV	17.01	TyV
15.16	VyD	21.01	TyV	19.91	No
16.30	TyV	24.83	TyV	22.44	No
19.31	TyV	28.08	H, TyPV	27.73	2D
19.44	TyV				
20.69	TyV				
28.95	No				

23/10/94 Longitud 11.03	16.90 °C Larvas Br. No	7/11/94 Longitud 10.90	14.50 °C Larvas Br. No	22/11/94 Longitud 9.76	13.20 °C Larvas Br. No
11.95	8H	11.83	No	13.08	No
13.50	2D	13.79	1D	20.52	No
14.35	D	14.50	No	21.25	V, PVyD
14.65	1V, 4H	15.26	TyV	22.15	TyV
15.94	3H	15.94	H, TyPV	23.34	No
17.02	TyV	17.69	No		
		21.16	No		
		23.04	T, PV, 1D		
		29.27	M, TyV y 2D		

13/12/94 Longitud 7.05	12.70 °C Larvas Br. No	27/12/94 Longitud 7.00	9.80 °C Larvas Br. No
12.25	No	13.86	No
13.98	3H	19.23	No
15.04	1H	20.90	No
15.30	No	22.48	No
15.10	1H	25.27	No
18.64	No	28.46	No
20.40	No		
22.44	No		
27.82	No		

1/2/95 Longitud 10.10	10.80 °C Larvas Br. No	21/2/95 Longitud 11.87	11.20 °C Larvas Br. No	14/3/95 Longitud 8.11	10.3 °C Larvas Br. No
10.24	No	13.06	No	11.04	No
10.57	No	14.44	No	12.43	No
14.34	No	16.24	No	13.18	No
16.24	No	17.55	No	14.75	No
21.64	No	19.38	No	16.65	No
23.83	No	23.02	No	19.71	No
26.80	No	27.33	No	21.44	No
				27.42	No

4/4/95 Longitud 10.98	14.2 °C Larvas Br. No	19/4/95 Longitud 9.25	15 °C Larvas Br. No	3/5/95 Longitud 9.10	15 °C Larvas Br. No
11.24	No	11.37	No	11.01	No
12.32	No	14.33	HyT	13.10	No
14.25	No	15.21	HyT	15.61	HyT
16.89	No	16.92	No	17.08	No
18.70	No	18.15	No	18.68	HM y T
20.51	No	20.08	No	19.32	No
21.21	No	22.22	No	20.50	No
25.10	No	24.91	No	22.22	No
27.80	No	29.50	HM y T	24.45	No

20/5/95 Longitud 8.18	16.6 °C Larvas Br. No	7/6/95 Longitud 9.91	19.5 °C Larvas Br. No	22/6/95 Longitud 8.47	20.4 °C Larvas Br. No
10.98	No	11.92	No	10.26	No
13.89	No	13.04	No	11.54	No
15.73	No	14.27	No	13.38	TyV
16.92	No	15.11	No	15.64	No
17.84	No	17.67	1H, 1T	16.10	No
19.07	No	20.71	H, TyV	18.61	TyV
20.03	No	22.95	TyV	20.17	No
25.14	No	24.59	T	22.10	No
31.80	No	28.00	TyV	24.57	No

11/7/95 Longitud 8.63	20.1 °C Larvas Br. No	1/8/95 Longitud 10.98	21.8 °C Larvas Br. DyV	17/8/95 Longitud 8.89	21.8 °C Larvas Br. No
10.13	No	12.12	No	10.27	No
11.85	No	13.47	TyV	11.68	No
13.14	No	15.48	No	13.01	No
15.71	No	16.77	VyT	17.69	H
16.98	TyV	18.31	D, PV, VyT	18.22	No
18.24	No	20.08	No	19.32	TyV, PV y D
20.65	No	22.34	H, V, PV y D	21.24	TyV y D
24.30	Si 300 DyV	26.26	DyV	26.01	TyV y D
		28.19	DyV	27.94	No

12/9/95 Longitud 9.25	20.8 °C Larvas Br. No
10.55	No
12.59	No
13.42	No
15.01	No
17.17	No
19.75	No
22.79	No
28.93	No
31.2	DyV



**Tabla 11:** Resultados del análisis histológico de los ejemplares. Se describe en cada ejemplar el estado de las fracciones genitales y la presencia de embriones intrafolículos, intragónado y branquiales. **E. Ifol.:** embriones intrafolículos. **E. Igon.:** embriones "intragónado". **E. branq.:** embriones branquiales. **Prem.:** folículos en estado prematuro. **Mad.:** estado maduro. **Sex Indif.:** gónada con sexo indiferenciado.

MESES	Ei/L(mm)	Femenina	Masculina	E. Ifol.	E. Igon	E. branq	T°
Sept. 21/9/94	(1)22.59 (2)19.69 (3)19.19 (4)15.83 (5)14.85 (6)14.09	— Mad/evacuando Prem/evacuada Prem/evacuada Mad/evacuando Mad/evacuando	Mad/evacuando Mad/evacuando Mad/evacuando Mad/evacuando Prem temprana	No Sí Sí Sí Sí No	No Sí Sí Sí Sí No	No Sí Sí Sí Sí No	18.6 °C
Oct 23/10/94	(1)19.76 (2)18.97 (3)11.20 (4)10.41	Mad/evacuando Mad/evacuando Premadura Premadura	Mad/evacuando No tiene Inmadura Prem temprana	Sí No No No	Sí No No No	Sí No No No	16.9 °C
Nov 22/11/94	(1)22.15 (2)21.49 (3)20.26 (4)18.12 (5)15.85 (6)13.20 (7)12.62 (8)10.04	Mad/evacuando Prem/evacuando Prem/evacuada Mad/evacuando Premadura Prem avanzada Madura	Mad/evacuando Mad/evacuando Prem/evacuada Mad/evacuando Recuperación Prem temprana Prem temprana Prem avanzada	No No No No No No No No	No No No No Sí No No No	No No No No No No No No	13.2 °C
Dic 13/12/94	(1)21.45 (2)17.28 (3)13.89 (4)8.30	Premadura Premadura Mad/evacuando Inmadura	Prem temprana Prem temprana Prem temprana Inmadura	No No No No	No No No No	No No No No	12.7 °C
Dic 27/12/94	(1)20.97 (2)20.47 (3)18.95 (4)14.44 (5)1.70 (6)1.30	Mad/evacuando Mad/evacuando Mad/evacuando Prem/evacuada Sex indif Sex indif	Mad/evacuando Mad/evacuando Mad/evacuando Evacuada Sex indif Sex indif	No No No No No No	No No No No No No	No No No No No No	9.8 °C
Enero 24/1/95	(1)15.39 (2)14.01 (3)11.97 (4)2.70 (5)2.40	Mad/evacuando Mad/evacuando Sex indif Sex indif Sex indif	Evacuada Evacuada Inmadura Sex indif Sex indif	No No No No No	No No No No No	No No No No No	9.5 °C
Febrero 22/2/95	(1)25.60 (2)22.45 (3)19.56 (4)18.34 (5)18.00 (6)13.76 (7)9.56	Mad/evacuando Prem/evacuada Prem/evacuada Mad/evacuando — Prem/evacuada Inmadura	Mad/evacuando Prem/evacuada Prem/evacuada Mad/evacuando Mad/evacuando Prem/evacuada Inmadura	No Sí Sí No No No No	No No No No No No No	No No No No No No No	11.2 °C
Marzo 16/3/95	(1)23.53 (2)21.70 (3)18.63 (4)17.92 (5)15.37 (6)13.30 (7)9.56	Prem/evacuada Mad/evacuando Mad/evacuando Premadura Premadura Mad/evacuando Inmadura	Prem/evacuada Evacuada Madura Madura Prem avanzada Prem temprana Inmadura	No No No No No No No	No No No No No No No	No No No No No No No	10.3 °C

MESES	Ei/L(mm)	Femenina	Masculina	E. Ifol.	E. Igon	E. branq	T°
Abрил 4/4/96	(1)23.43 (2)22.19 (3)18.91 (4)17.46 (5)14.40 (6)12.81	Evacuada Prem/evacuando Madura Madura Madura Madura	Prem/evacuada Recuperación Recuperación Recuperación Inmadura Inmadura	No No No No No No	No No No No No No	No No No No No No	14.2 °C
Mayo 3/6/96	(1)22.25 (2)19.46 (3)17.36 (4)16.22 (5)13.92 (6)9.74 (7)7.08	Mad/evacuando Mad/evacuando Mad/evacuando Mad/evacuando Madura Madura Inmadura	Premadura Premadura Premadura Premadura Inmadura Inmadura Inmadura	No No No No No No No	No No No No No No No	No No No No No No No	16.6 °C
Junio 7/6/96	(1)23.29 (2)20.04 (3)18.08 (4)15.86 (5)13.49 (6)9.84 (7)8.20 (8)6.44	Mad/evacuando Mad/evacuando Ovoc. aislados Premadura Prem avanzada Premadura Inmadura Premadura	Mad/evacuando Mad/evacuando Mad/evacuando Prem temprana Prem temprana Prem temprana Inmadura Prem temprana	Sí No No No No No No No	Sí No No No No No No No	Sí No No No No No No No	19.5 °C
Julio 11/7/96	(1)21.50 (2)18.92 (3)16.84 (4)12.60 (5)10.00 (6)7.31	Mad/evacuando Mad/evacuando Mad/evacuando Prem avanzada Premadura Sex indif	Mad/evacuando Mad/evacuando Mad/evacuando Premadura Premadura Sex indif	Sí Sí No No No No	Sí No No No No No	Sí No No No No No	20.1 °C
Agosto 1/8/96	(1)22.51 (2)19.08 (3)11.56 (4)8.08 (5)6.17	Mad/evacuando Mad/evacuando Mad/evacuando Inmadura Inmadura	Mad/evacuando Mad/evacuando Mad/evacuando Prem temprana Inmadura	Sí Sí Sí No No	Sí Sí No No No	Sí Sí No No No	21.8 °C
Agosto 17/8/96	(1)17.46 (2)15.97 (3)12.48	Mad/evacuando Prem/evacuada Mad/evacuando	Mad/evacuando Madura/evacuada Premadura	Sí Sí No	Sí Sí No	Sí Sí No	21.8 °C
Sept 12/9/96	(1)24.26 (2)21.06 (3)17.55 (4)15.90 (5)12.92 (6)10.97 (7)7.41	Evacuada Evacuada Mad/evacuando Mad/evacuando Mad/evacuando Premadura Inmadura	Mad/evacuando Mad/evacuando Mad/evacuando Mad/evacuando Mad/evacuando Inmadura Inmadura	Sí Sí No No No No No	Sí Sí No No No No No	Sí Sí No No No No No	20.8 °C

**Tabla 12:** N° de ejemplares grávidos (con larvas branquiales) (12A) y no grávidos (sin larvas branquiales) (12B) separados por tamaños procedentes del experimento de fecundación (**Exp. Fec.**), de las disecciones de las branquias de los individuos de frotis (**Frotis**) y de los ejemplares del estudio histológico (**Histología**). Los datos pertenecen a los meses donde se ha observado incubación branquial: septiembre, octubre y noviembre de 1994, abril, mayo, junio, julio, agosto y septiembre de 1995).

A					B				
L (mm)	Grav SI Exp.Fec.	Grav SI Frotis	Grav SI Histología	Total	L (mm)	Grav NO Exp.Fec.	Grav NO Frotis	Grav NO Histología	Total
10	2			2	10	8	4	4	16
11	0	1		1	11	9	4	2	15
12	0			0	12	3	3	5	11
13	4	2	1	7	13	7	1	2	10
14	5		2	7	14	2		2	4
15	8		2	10	15	5		3	8
16	2			2	16	3		2	5
17	4		1	5	17	3		3	6
18	3	5	2	10	18	3		3	6
19	3	6	4	13	19	3	6	1	10
20	1	8		9	20	6	4	2	12
21	3	5	3	11	21	1	4		5
22	3	4	1	8	22	4	6	4	14
23	1	5	1	7	23	1	4	1	6
24	3	6		9	24	3	4	1	8
25		3		3	25		3		3
26	2	1		3	26		2		2
27	1	2		3	27	1	1		2
28	4	3		7	28	2	2		4
> 29	1			3	> 29		2		2

10,9 mm (procedentes del experimento de fecundación), otro mide 11 mm (de frotis) y el resto se encuentra en el intervalo de 13-13,9 mm.

De manera más frecuente se observan ejemplares grávidos en tamaños superiores a 14 mm.

Considerando separadamente los ejemplares con larvas y sin larvas provenientes del experimento de fecundación, de las disecciones y de los cortes histológicos se elaboran las tablas 12A y 12B. En ambas tablas sólo se consideran los meses del año en los que se ha observado desarrollo larvario: septiembre, octubre y noviembre de 1994 y abril, mayo, junio, julio, agosto y septiembre de 1995 (no se incluye el mes de agosto de 1994 porque no han podido obtenerse resultados ni de disecciones ni de histología). En la tabla 12A se anotan los ejemplares grávidos y en la 12B los individuos no grávidos (sin larvas) desde tamaños de 10 mm y de cada uno de los tres apartados mencionados. Como resumen general de estas tablas se configura la tabla 13 que indica por tamaños el número total y el porcentaje de ejemplares grávidos y no grávidos durante los meses con presencia de larvas branquiales (fig. 24).

Se observa que la gravidez de la población es más representativa en ejemplares de tamaño igual o superior a 13 mm y que durante los meses de incubación branquial el 40-60% aproximadamente de la población está grávida (Tabla 13.)

Además de los embriones intrabranquiales, en *Corbicula fluminea* se ha observado en cortes histológicos la presencia de embriones intrafoliculares y embriones intragónodo.

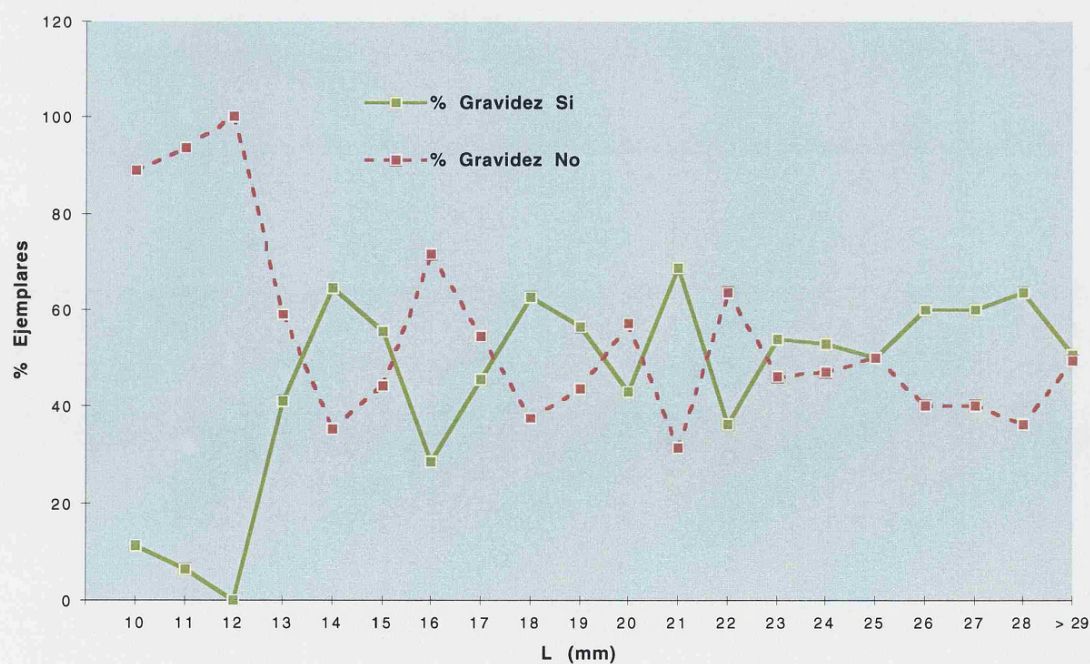
Se han observado embriones intrafoliculares (figs. 25A-G) en los individuos de los meses siguientes: septiembre y octubre de 1994; febrero, junio, julio, agosto y septiembre de 1995 (tabla 11).

El único mes donde se han visto ejemplares que presentan embriones intrafoliculares pero no embriones intrabranquiales es febrero de 1995 (tabla 11 y 12). En febrero se han

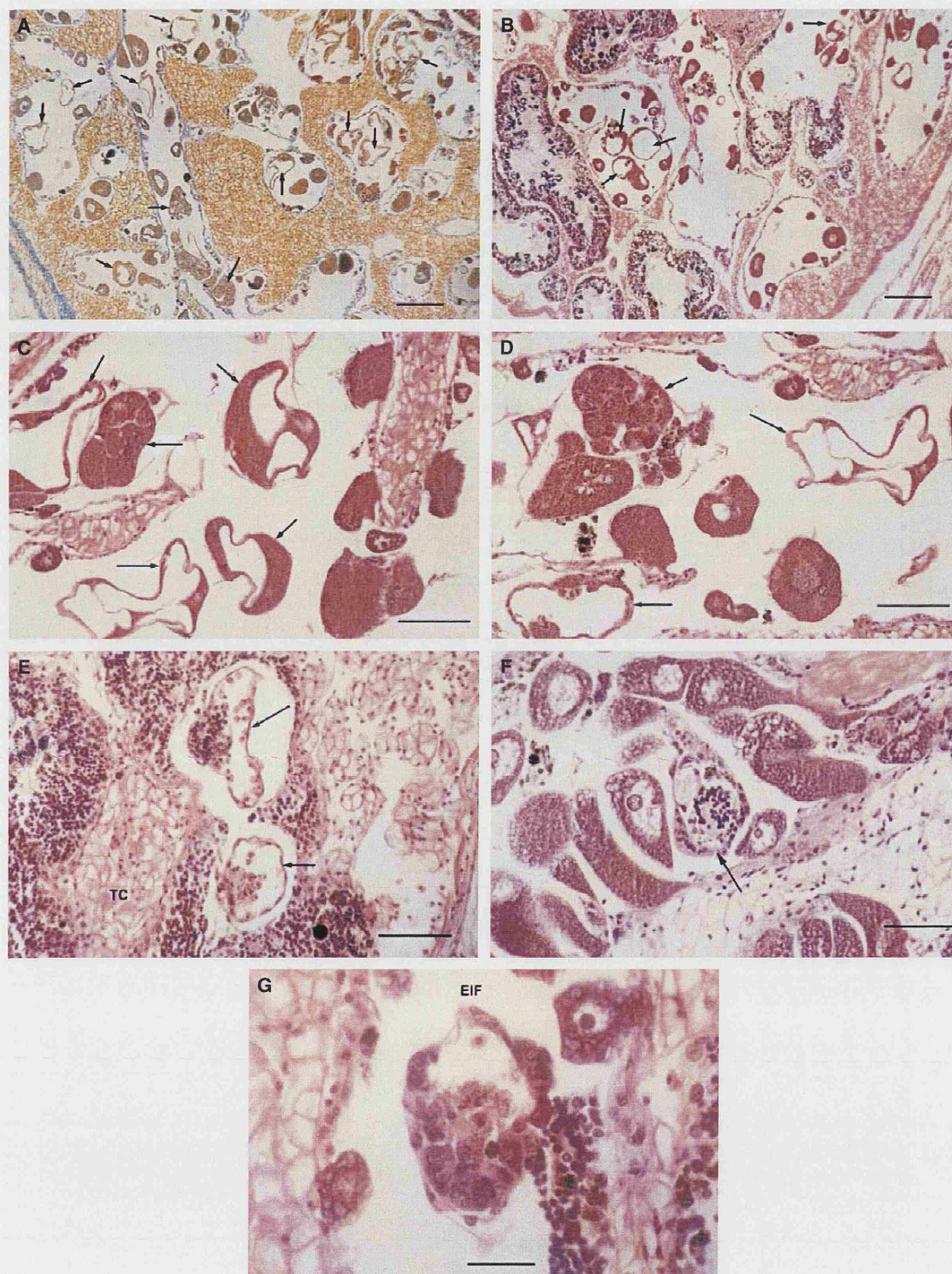
**Tabla 13:** Número total y porcentaje de ejemplares grávidos (**SÍ**) y no grávidos (**NO**) separados por tamaños durante los meses con presencia de larvas branquiales.

L (mm)	SÍ	NO	Total	L (mm)	% Gravidéz	SÍ % Gravidéz	No
10	2	16	18	10	11,1		88,9
11	1	15	16	11	6,3		93,7
12	0	11	11	12	0,0		100,0
13	7	10	17	13	41,1		58,9
14	7	4	11	14	64,6		35,4
15	10	8	18	15	55,6		44,4
16	2	5	7	16	28,6		71,4
17	5	6	11	17	45,5		54,5
18	10	6	16	18	62,5		37,5
19	13	10	23	19	56,5		43,5
20	9	12	21	20	42,9		57,1
21	11	5	16	21	68,7		31,3
22	8	14	22	22	36,4		63,6
23	7	6	13	23	53,8		46,2
24	9	8	17	24	52,9		47,1
25	3	3	6	25	50,0		50,0
26	3	2	5	26	60,0		40,0
27	3	2	5	27	60,0		40,0
28	7	4	11	28	63,6		36,4
> 29	3	2	5	> 29	50,6		49,4

observado embriones intrafolículos en dos individuos (de 22 y 19 mm respectivamente) presentando la captura de este mes una temperatura del agua de 11,2°C. El resto de indivi-

**Fig. 24:** Porcentaje de ejemplares de tamaño  $\geq 10$  mm "grávidos" y "no grávidos" durante los meses con presencia de larvas branquiales.





**Fig 25: Embriones intrafolliculares.** A y B) Folículos gonadales con gran cantidad de embriones (flechas) en su interior; obsérvese el estado evacuado de los folículos. C-G) Detalle de embriones intrafolliculares (flecha). Tinción H-E: B-G. Tinción de Azán: A. Escalas: 200  $\mu\text{m}$  (A y B), 50  $\mu\text{m}$  (C-F), 30  $\mu\text{m}$  (G).



duos que tienen embriones intrafoliculares también los presentan intrabranquiales. Solamente se ha visto un ejemplar que presenta embriones intrafoliculares pero no intrabranquiales que pertenece a la captura del mes de agosto de 1995 (1/08/95), el ejemplar talla 11,6 mm y es el individuo más pequeño con embriones intrafoliculares (tabla 11).

Entre todos los individuos con embriones intrabranquiales tan sólo dos ejemplares no tienen embriones intrafoliculares. Estos individuos proceden del mes de noviembre (ej. número 4 de 18 mm) y del mes de junio (ej. número 5 de 13,5 mm), siendo destacable que éste último tiene la fracción genital masculina premadura temprana (tabla 11).

En las preparaciones histológicas se ha observado evacuación simultánea de ambos gametos, y en ocasiones embriones a nivel de los conductos genitales y en la región del gonoducto (figs. 23F, 23G) en septiembre, octubre y noviembre de 1994, febrero, junio, julio, agosto y septiembre de 1995. Prácticamente todos los ejemplares tienen ambas fracciones genitales maduras y evacuando o recientemente evacuadas. De todos los ejemplares portadores de embriones intragonoducto, tan sólo uno procedente de noviembre (ej. número 6 de 13,2 mm) y otro del mes de julio (ej. 4 de 12,6 mm) presentan la fracción masculina en estado prematuro; ambos tallan longitudes inferiores a 14 mm y no presentan ni embriones intrabranquiales ni en el gonoducto. El resto de individuos observados con embriones intragonoducto presentan las dos líneas germinales maduras y evacuando o recientemente evacuadas y presentan tamaños superiores a 14 mm (tabla 11).

Es reseñable que los ejemplares con embriones intrafoliculares presentan embriones intragonoducto y embriones en branquias con la excepción de los ejemplares del mes de febrero y el ejemplar de agosto de 11,6 mm, que tienen embriones intrafoliculares pero no branquiales.

El rango de temperatura del agua donde se ha observado el desarrollo larvario completo (hasta juvenil D) oscila entre 13,2°C y 22,1°C, no encontrándose ejemplares con desarrollo larvario branquial a temperaturas inferiores a 13°C. En diciembre, donde solamente se observan ejemplares con huevos, la temperatura era de 12,7°C, por debajo de esa temperatura no se encuentran indicios de fecundación en branquia. En abril donde aparecen nuevamente huevos y fases larvarias tempranas, se registra una temperatura del agua de 15°C y en el experimento, la aparición de larvas pedivelígeras y juveniles D se observa en los ejemplares de junio de 1995 con una temperatura del agua de 19,5°C.

En la figura 26 puede observarse un resumen esquemático de la relación observada entre gravidez/desarrollo larvario y la temperatura del agua.

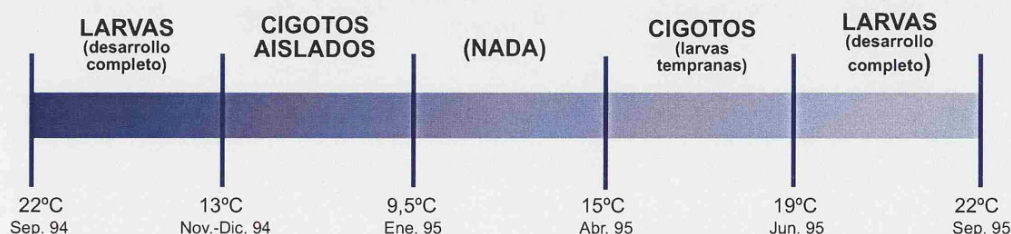


Fig. 26: Relación entre la gravidez de los ejemplares de *Corbicula fluminea* y la temperatura del agua.

**Tabla 14:** Matriz de los valores físico-químicos y del estado de gravidez de *Corbicula fluminea* utilizada en el análisis de componentes principales y discriminante. Abreviaturas: **T:** temperatura (°C); **O.D.:** oxígeno disuelto (mg/l); **Conduct.:** conductividad a 25°C (μs); **Ca:** Calcio (mg/l); **Alcal:** alcalinidad (mmol/l); **D.Carb.:** dureza de carbonatos (°dh); **D. Tot:** dureza total (°dh); **Gravid:** ejemplar grávido.

Lote	Mes	T	pH	O.D.	Conduct.	Ca	Alcal	D.Carb	D. Tot	Gravid
1	15/3/95	10,3	7,58	8,43	82	13	0,6	0,8	1,5	NO
2	4/4/95	14,2	6,48	6,81	111	10	0,4	1,2	2,5	NO
3	19/4/95	15,0	7,10	6,25	105	10	0,3	1,4	2,4	SI
4	3/5/95	16,6	7,73	7,00	101	8	0,4	1,3	2,0	SI
5	20/5/95	16,6	8,01	7,23	110	13	0,5	1,3	1,6	NO
6	7/6/95	19,5	7,34	6,75	115	8	0,6	1,6	1,6	SI
7	22/6/95	20,4	7,16	5,91	128	13	0,4	1,3	1,8	SI
8	11/7/95	20,1	7,35	5,52	127	9	0,5	1,5	2,6	SI
9	1/8/95	21,8	7,52	5,08	138	8	0,9	1,4	2,6	SI
10	17/8/95	21,8	7,55	4,80	149	17	0,7	1,8	2,8	SI
11	12/9/95	20,8	7,41	5,12	143	10	0,6	1,8	2,0	SI
12	2/10/95	19,7	7,39	5,03	143	6	0,6	1,4	1,6	NO
13	16/10/95	19,0	7,37	5,40	157	10	0,6	1,4	1,6	SI
14	6/11/95	16,4	7,23	5,26	128	10	0,5	1,3	1,4	SI
15	23/11/95	14,0	7,17	7,77	102	10	0,3	1,0	1,7	NO
16	12/12/95	10,8	7,27	6,16	105	6	0,6	1,2	1,4	NO
17	5/2/96	9,5	7,11	6,38	86	6	0,4	1,0	1,4	NO
18	22/2/96	8,9	7,17	6,66	81	4	0,5	0,6	1,0	NO
19	11/3/96	9,8	6,80	6,78	85	10	0,4	0,8	1,4	NO
20	26/3/96	11,5	7,60	6,02	91	10	0,7	1,0	1,4	NO
21	16/4/96	12,9	7,80	8,18	102	7	0,6	1,6	2,2	NO

## PARÁMETROS FÍSICO-QUÍMICOS: INFLUENCIA SOBRE LA REPRODUCCIÓN DE *C. FLUMINEA*

En el Apéndice 2 se muestran los valores de todos los datos físico-químicos del agua, en el Apéndice 3 se muestra su representación gráfica.

Para conocer la posible influencia de las variables del medio sobre la gravidez de *C. fluminea* se ha realizado un Análisis de Componentes Principales y un Análisis Discriminante. Se han considerado 21 muestreos quincenales (de los 36 totales), la tabla 14 refleja la matriz de datos físico-químicos evaluados así como la presencia/ausencia de gravidez en estas capturas.

### Análisis de Componentes Principales

Del análisis (tablas 15-18) se han obtenido tres factores que explican el 80,2% de la varianza del medio, contribuyendo el "factor 1" a explicar un 49,4% de dicha varianza (tabla 15). A partir de la rotación Varimax y de las gráficas de los factores, se observa que el "factor 1" está relacionado con el oxígeno disuelto (negativamente), la conductividad, la temperatura y en menor medida con la dureza de carbonatos. El "factor 2" se relaciona negativamente con el pH y la alcalinidad y contribuye en un 16,3%. El "factor 3" se relaciona también negativamente con el calcio y la dureza total explicando un 14,5% de la varianza (tablas 16 y 17). La dureza de carbonatos y la dureza total son las variables que menos contribuyen a explicar la varianza.

Para observar la relación de los factores calculados con la presencia de gravidez, sólo se consideran los lotes donde encontramos adultos grávidos (lotes: 3, 4, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 13 y 14) (tabla 18). Del análisis de la relación de estos lotes con los factores se concluye:



**Tablas 15-18:** Datos resultantes del análisis de componentes principales. **15)** Eigenvalores. **16)** Rotación varimax. **17)** Score de los factores. **18)** Relación de los factores con la gravidez de los ejemplares analizados.

1 5

Factor	Eigenvalues and Percent of Variance Explained		
	Eigenvalue	% Explained	Cum. percent
1	3,95123	49,39037	49,39037
2	1,302237	16,27796	65,66833
3	1,162685	14,53357	80,20190

1 6

variable	Factor loadings (varimax rotated solution)		
	Factor 1	Factor 2	Factor 3
T	.781665	-.200077	-.483019
Ph	-.086340	-.923774	-.192319
ODMGL	-.914357	-.030155	-.092967
CONDCT	.885346	-.145634	-.308515
CA	-.009196	-.061222	-.816382
ALCAL	.432773	-.743939	.140471
DCARBON	.663581	-.268161	-.526409
DTOTAL	.412434	.034241	-.704820
Variance	.379520	.193223	.229276

1 7

Variable	Factor score coefficients (varimax rotated solution) based on 3 factors.		
	Factor 1	Factor 2	Factor 3
T	.205575	-.007355	-.136182
PH	-.207570	-.663641	-.092553
ODMGL	-.437658	-.135198	-.289773
CONDCT	.302392	.033132	.009634
CA	-.213787	.012545	-.578353
ALCAL	.131422	-.489439	.259500
DCARBON	.132875	-.068864	-.191367
DTOTAL	.015699	.128811	-.401674

1 8

Lote	Factor1	Factor 2	Factor 3
1	-2.151	-1.016	-0.532
2	0.050	2.305	-0.705
3	-0.153	1.392	-0.973
4	-0.664	-0.424	-0.442
5	-1.109	-1.434	-1.073
6	0.315	-0.450	0.161
7	0.328	0.873	-0.919
8	0.847	0.344	-0.648
9	1.558	-1.290	0.374
10	1.132	-0.604	-2.129
11	1.355	-0.267	-0.277
12	1.466	-0.247	1.164
13	1.177	-0.216	0.292
14	0.673	0.362	0.484
15	-1.130	0.952	-0.573
16	0.034	-0.202	1.430
17	-0.546	0.800	1.203
18	-0.742	0.266	2.282
19	-0.902	1.432	0.490
21	-0.557	-1.155	0.854
21	-0.983	-1.421	-0.462

**Factor 1:** Exclusivamente los lotes 3 y 4 presentan valores negativos del factor 1 debido a que presentan los valores más bajos de temperatura, conductividad y los más altos de oxígeno disuelto (debido a que esta variable se correlaciona negativamente con las restantes). El resto de los lotes presenta valores positivos del factor 1, por lo que se podría decir que la presencia de gravidez normalmente está relacionada con valores altos de temperatura, conductividad y dureza de carbonatos y con valores bajos de oxígeno disuelto.

**Factor 2:** La mayor parte de los lotes se encuentran en los valores negativos del factor, destacando el lote 9 por ser el que presenta los valores más altos de pH y alcalinidad (realmente es el lote 10 el que presenta el valor de pH más alto pero al

tener la alcalinidad más baja se encuentra en un nivel inferior en la gráfica). De los lotes que están en la zona positiva destaca el lote 3 por ser el que presenta los valores más bajos de pH y de alcalinidad.

**Factor 3:** Las variables de este factor presentan signo negativo por lo que nos encontramos en el área negativa aquellos lotes con los valores más altos para el calcio y la dureza total (lotes 3, 4, 7, 8, 10 y 11). Destaca el lote 10 alejándose del resto por presentar un pico de calcio (17 mg/l) y el valor más alto de dureza total. Los lotes restantes se presentan en la zona positiva porque las variables tienen valores ligeramente inferiores.

Se puede concluir que la presencia de gravidez tiende a relacionarse con valores bajos de oxígeno disuelto y con valores altos de las restantes variables tomadas en el muestreo.

### Análisis Discriminante

El análisis discriminante (tablas 19-23) sólo ha tolerado la inclusión de la variable temperatura del agua (tablas 19 y 20), obteniéndose la siguiente función (tabla 21):

$$\text{Gravidez No} = -9.872 + T \times 1.469$$

$$\text{Gravidez Sí} = -22.152 + T \times 2.237$$

De la relación de la temperatura con la presencia/ausencia de individuos grávidos (fig. 27) se deduce que el intervalo de temperatura donde encontramos ejemplares grávidos oscila entre 15°C y 21,8°C (que es la máxima temperatura registrada del agua) siendo predomi-

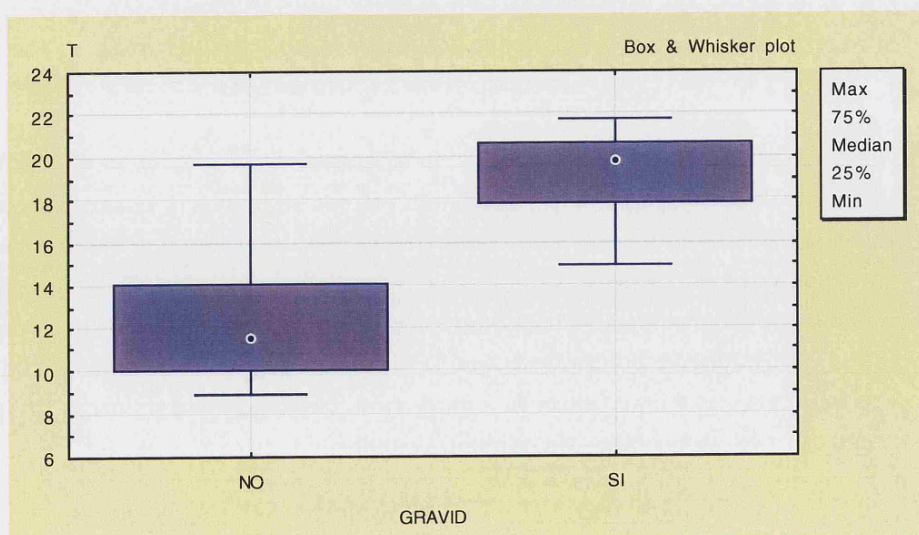


Fig 27: Representación gráfica de la función de clasificación, relación de la presencia/ausencia de gravidez con la temperatura del agua.

**Tablas 19-23:** Análisis discriminante: **19)** Resumen de la variable incluida en el análisis discriminante. **20)** Resumen de las variables no incluidas en el análisis discriminante. **21)** Función de clasificación. **22:** Matriz de clasificación. **23)** Casos (capturas) clasificados.

19

STATISTICA DISCRIM. STATS	Discriminant Function Analysis Summary					
	Step 1, N of vars in model: 1; Grouping: GRAVID (2 grps)					
	Wilks' Lambda: .41777 approx. F (1,19)=26.480 p< .0001					
N=21	Wilks' Lambda	Partial Lambda	F-remove	p-level	Toler.	1-Toler. (R-Sqr.)
T	1.000.000	.4177688	2.647.970	.0000575	1.000.000	.000000

20

STATISTICA DISCRIM. STATS	Variables currently not in the model					
	Df for all F-tests: 1,18					
N=21	Wilks' Lambda	Partial Lambda	F to enter	p-level	Toler.	1-Toler. (R-Sqr.)
Ph	.4104755	.9825422	.3198235	.5786958	.9336005	.0663995
ODMGL	.4051203	.9697237	.5619883	.4631464	.8703877	.1296123
CONDUCT	.4105574	.9827384	.3161668	.5808561	.3355814	.6644186
CA	.4176422	.9996970	.0054551	.9419373	.9460479	.0539521
ALCAL	.4018340	.9618574	.7137931	.4092773	.8659665	.1340335
DCARBON	.4162819	.9964408	.0642939	.8027071	.5810854	.4189146
DTOTAL	.4164265	.9967870	.0580213	.8123735	.8441238	.1558762

21

STATISTICA DISCRIM. STATS	Classification Functions; grouping: GRAVID		
	NO	SI	
Variable	p=.52381	p=.47619	
T	146.853	22.372	
Constant	-.987.168	-.221.522	

22

STATISTICA DISCRIM. STATS	Classification Matrix		
	Rows: Observed classifications Columns: Predicted classifications		
Group	Percent Correct	NO p=.52381	SI p=.47619
NO	81,81818	9	2
SI	90,00000	1	9
Total	85,71429	10	11

23

STATISTICA DISCRIM. STATS	Classification of Cases		
	Incorrect classifications ( * )		
Case	Observed Classif.	1 p=.52381	2 p=.47619
1	NO	NO	SI
2	NO	NO	SI
3*	SI	NO	SI
4	SI	SI	NO
5*	NO	SI	NO
6	SI	SI	NO
7	SI	SI	NO
8	SI	SI	NO
9	SI	SI	NO
10	SI	SI	NO
11	SI	SI	NO
12*	NO	SI	NO
13	SI	SI	NO
14	SI	SI	NO
15	NO	NO	SI
16	NO	NO	SI
17	NO	NO	SI
18	NO	NO	SI
19	NO	NO	SI
20	NO	NO	SI
21	NO	NO	SI

nante la gravidez entre 18 y 21°C. Por otro lado el modelo determina que no hay ejemplares grávidos por debajo de 15,5°C hasta la temperatura mínima de 9,8°C.

La función discriminante se puede considerar válida debido a que discrimina correctamente en un 90% de las ocasiones cuando hay presencia de gravidez y en un 81.8% cuando no la hay (tabla 22).

El propio análisis nos indica tres muestreos en donde no se cumple lo predicho. Hay un muestreo en el que el modelo predice que no debiera haber gravidez cuando sí se ha observado (en la captura 3 se observa gravidez a una temperatura 15°C), y hay dos lotes en donde no se han encontrado ejemplares grávidos cuando el modelo indica que debiera haberlos (el caso 5 donde con una temperatura de 16,6°C y el caso 12 con una temperatura de 19,7°C) (tabla 23). Teniendo en cuenta el pequeño tamaño de la muestra observada, ésta pudiera ser la razón por la que no encontramos ejemplares grávidos en los dos últimos casos.



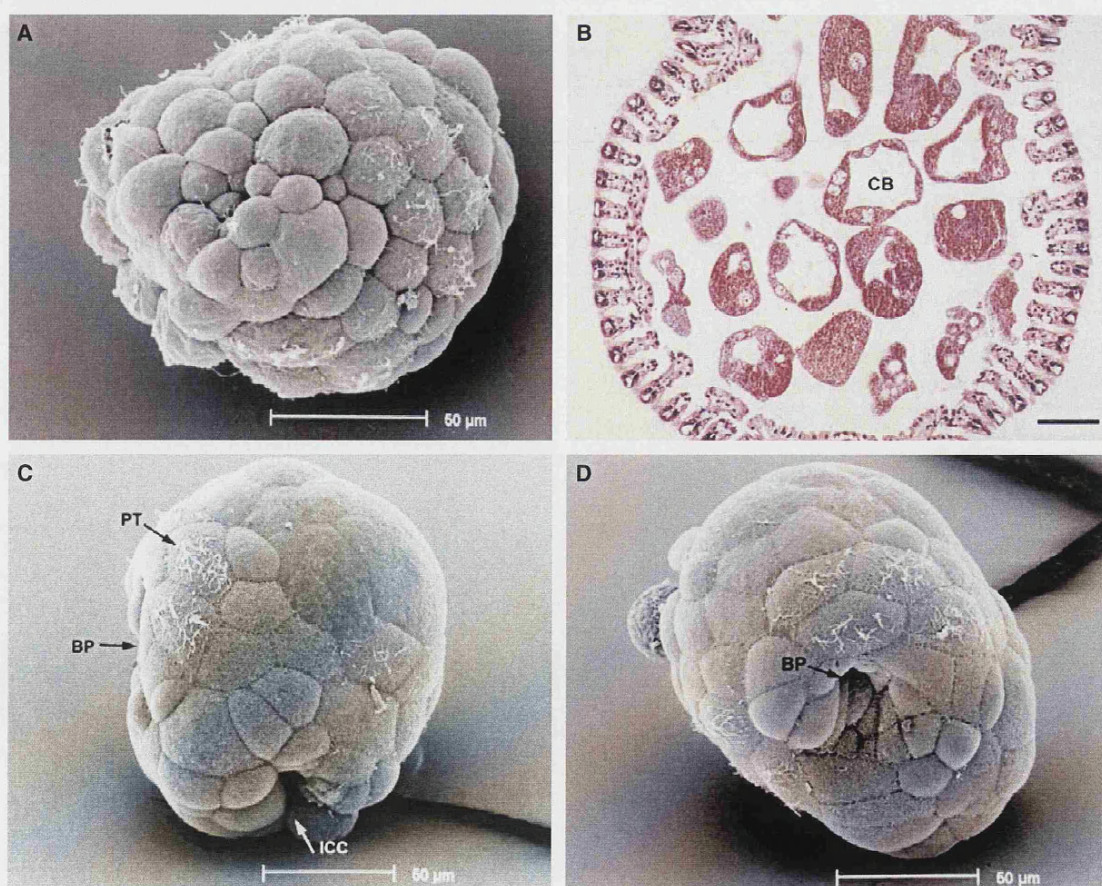
#### 4- DESARROLLO LARVARIO

El desarrollo larvario de *C. fluminea* tiene lugar en las demibranquias internas. Una vez producida la fecundación y posterior al cigoto, sigue la línea de desarrollo habitual en moluscos bivalvos: mórula, celoblástula, gástrula, larva trocófora, larva velígera, larva pedi-velígera y juvenil en forma de "D". Durante la transición o en cualquiera de los dos últimos estados, la larva o el juvenil sale al exterior.

#### MORFOGÉNESIS

Se utiliza este término para describir la formación del embrión.

La segmentación de los blastómeros es en espiral. En la blástula las células se reordenan en torno a una cavidad central llena de fluido denominada blastocele (figs. 28A, 28B). Posteriormente se produce la gastrulación y la formación de las capas germinales que



**Fig. 28: Embryones.** A) Fotografía al MEB de una celoblástula. B) Sección histológica de celoblástulas en el interior de la demibranquia interna. C) Gástrula. D) Gástrula, vista posterior. Tinción H-E. B. Escala: 50 μm (B).



dan origen a los esbozos de los órganos. A partir del ectodermo se formará la epidermis, los órganos sensoriales, el sistema nervioso central y la zona inicial y final del sistema digestivo (el estomodeo y el proctodeo). Del entodermo se formará el tracto intestinal y las glándulas anejas (hepatopáncreas). Del mesodermo derivan la musculatura, los órganos circulatorios y la sangre, los órganos excretorios, el epitelio celomático y el mesénquima. En fases tempranas de la gástrula se comienza a observar la invaginación que genera el tubo digestivo primitivo o arquenteron. En pasos posteriores, se observa una fina ciliatura en la superficie externa del embrión y dos invaginaciones. La banda ciliada se denomina prototroca y respecto a las invaginaciones, una se sitúa en posición posterior, el blastoporo, que es la abertura al exterior del arquenteron, y otra en posición dorsal que corresponde a la "invaginación del campo de la concha" (figs. 28C, 28D) (que posteriormente secretará el inicio de la concha larvaria). Cuando la gastrulación no está completa el primer indicio del campo de la concha es el alargamiento de las células del área dorsal (postrocal) del embrión (MOOR, 1983).

## EVOLUCIÓN Y DESARROLLO DE LAS LARVAS

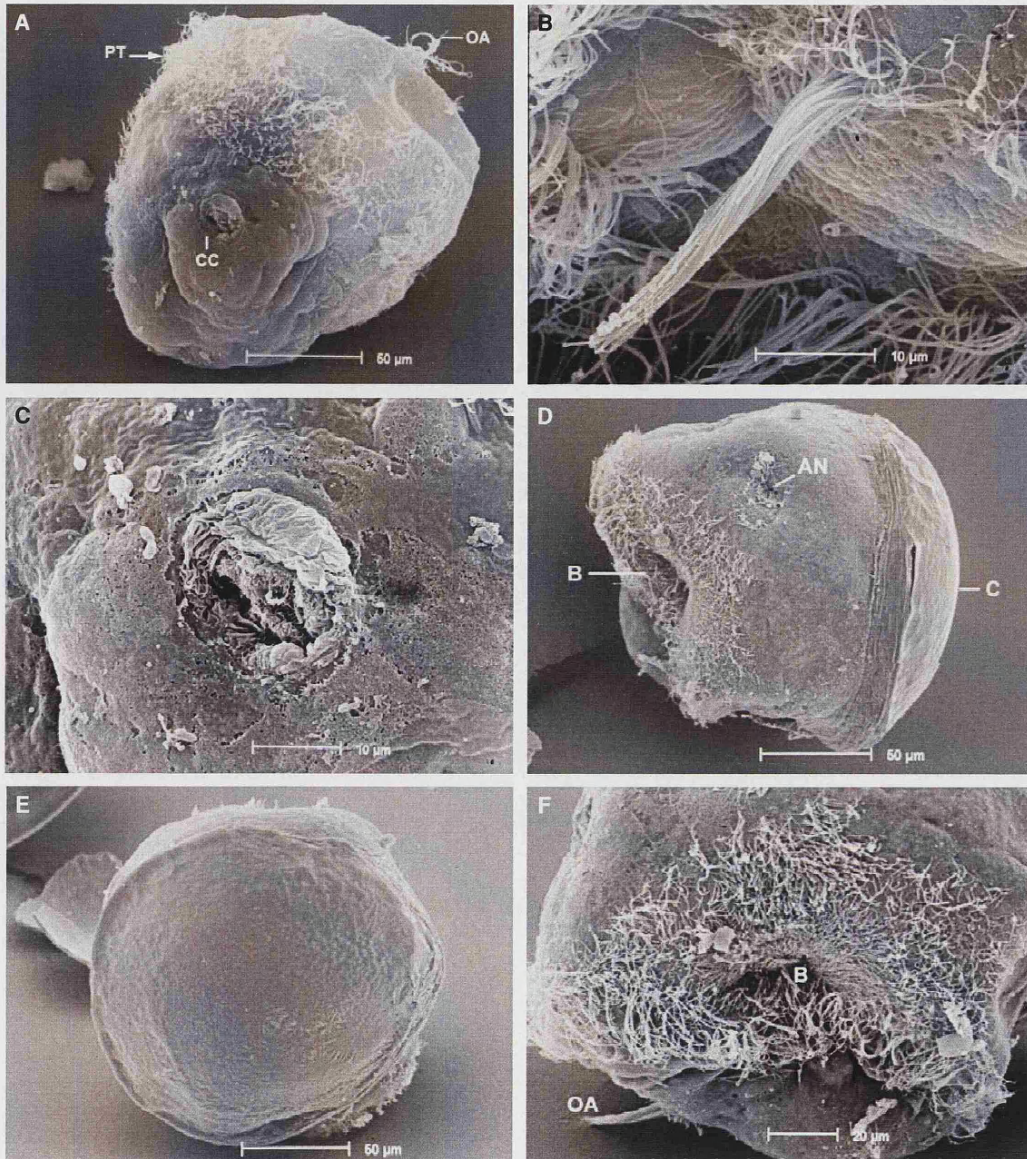
Larva trocófora (fig. 29): Es el siguiente estadio, en que la larva presenta una prototroca compuesta por dos bandas de cilios y el órgano apical en el centro (fig. 29A). El órgano apical está compuesto por largos cilios enrollados entre sí (fig. 29B). En posición postrocal se observa el campo de la concha. En estados avanzados de la trocófora se ha observado que el campo de la concha comienza a secretar el periostraco de la concha (fig. 29C).

Larva velígera (figs. 29, 30 y 31): A medida que la concha crece, la larva va adquiriendo la morfología externa de la larva velígera. La prototroca de la trocófora se va transformando en lo que será el velo de estados larvarios posteriores. En estados de velígera tempranos, cuando la valva tiene forma de disco, se puede observar la boca (en posición posterior al velo), el orificio anal y el penacho anal, que bordea al ano en posición posterior (figs. 29D, 29E, 29F). La concha sigue creciendo y en un momento del desarrollo comienza a plegarse, adquiriendo el aspecto de una pequeña almeja con dos valvas (fig. 30A). Una vez que ha adquirido su morfología externa definitiva, la larva velígera se caracteriza por presentar dos valvas y un prominente velo (fig. 30B).

El velo (fig. 30C) es un saco epitelial y se compone de una zona central sin cilios en donde se sitúa el órgano apical en posición anterior. Rodeando la zona central se sitúan dos bandas de largos cilios preorales (figs. 30D, 30E), a continuación presenta una zona de cilios cortos denominada banda adoral (fig. 30F) y en posición posterior a la boca se localiza una banda de cilios cortos, la banda postoral (fig. 30G).

En cortes histológicos se ha podido observar el sistema digestivo, los músculos retractores del velo y el músculo aductor anterior de la larva velígera (fig. 31).

La boca se sitúa en posición posterior al velo. A continuación, el esófago que desemboca en un estómago de forma redondeada (fig. 31B), y del que parte el intestino que des-



**Fig. 29: Larvas trocóforas.** A) Fotografía al MEB de la larva trocófora. B) Detalle del órgano apical de la larva trocófora. C) Detalle del campo de la concha de la larva trocófora. **Larvas velíferas.** D) Larva velígera temprana, se observa la concha en forma de disco. E) Vista dorsal de la concha en forma de disco. F) Detalle de la boca en posición posterior al velo.

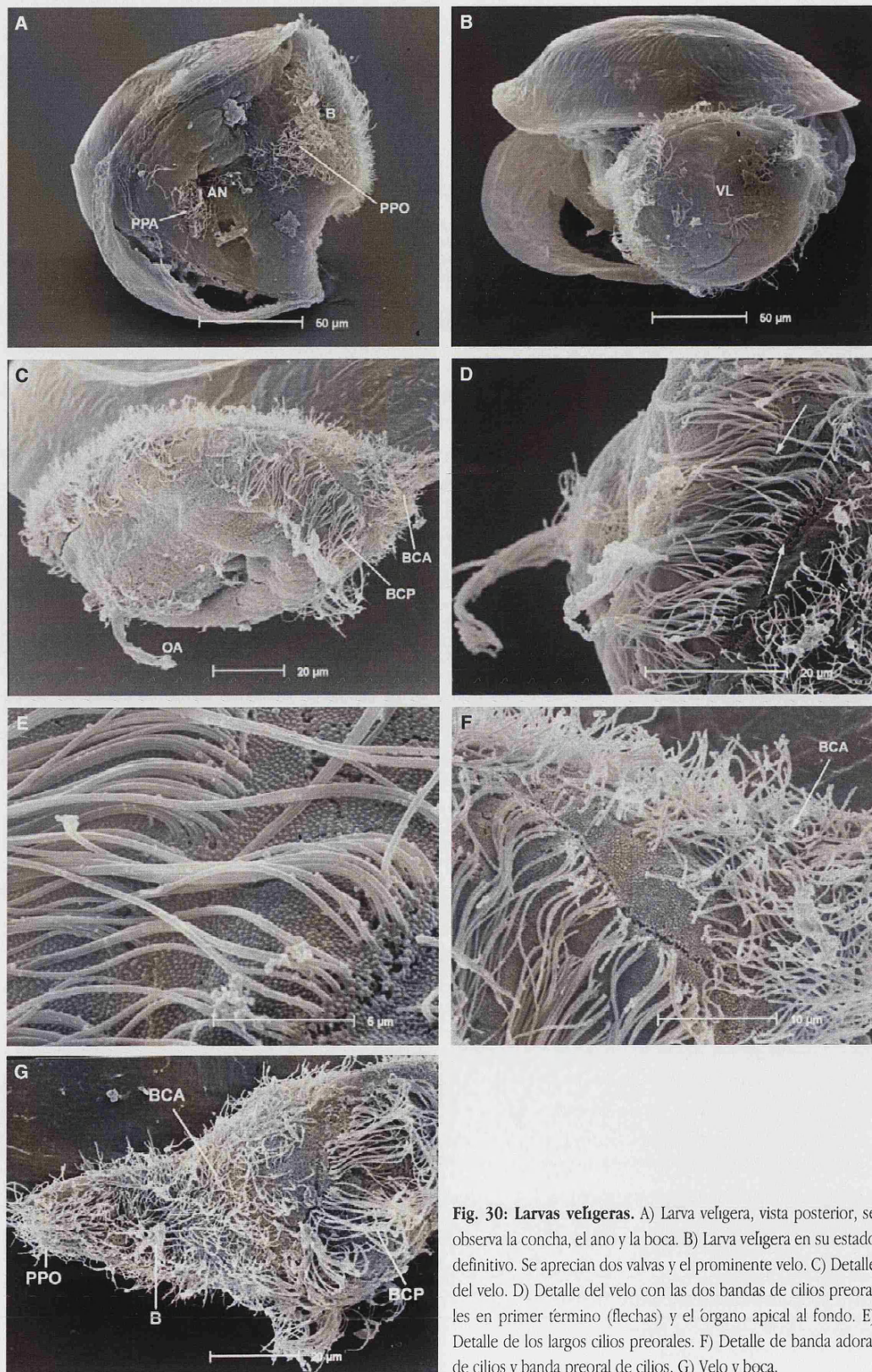
emboca en el ano, situado éste en el extremo más posterior de la larva (fig. 31D). La glándula digestiva se sitúa en posición ligeramente posterior al estómago.

El conjunto de músculos retractores del velo se ancla en puntos dorsales de las valvas (figs. 31A, 31E).

En estados avanzados de larvas velíferas se ha podido observar el primordio de pie, situado entre la boca y el ano.

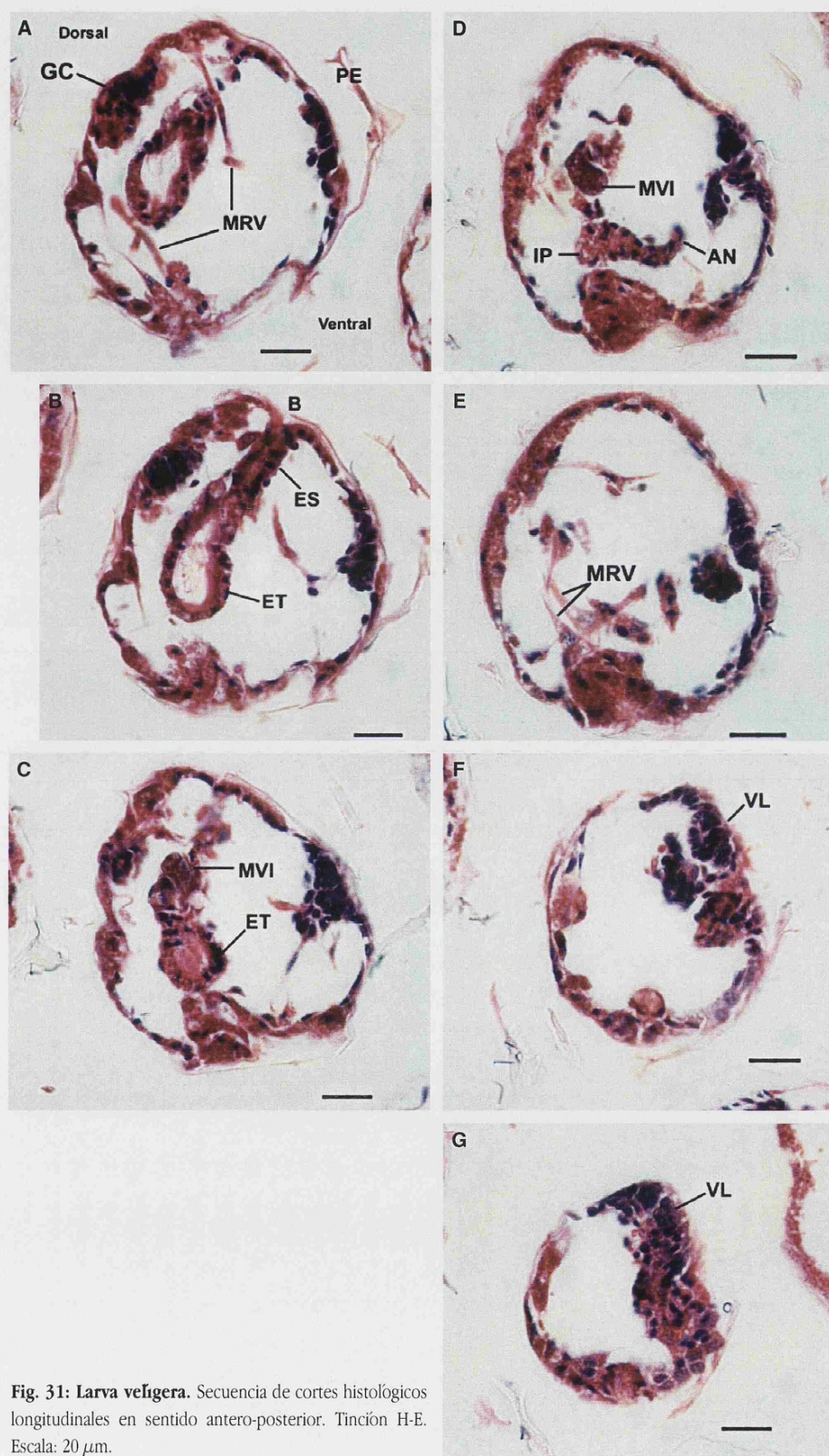
Larva pedivelígera (figs. 32 y 33): es el estadio posterior y se caracteriza por la presencia de las dos valvas, el velo y el pie (fig. 32A).



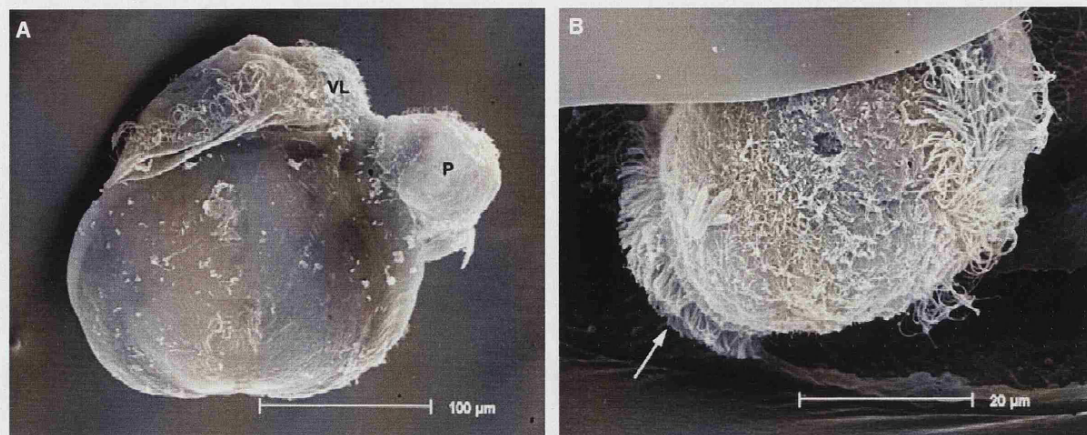


**Fig. 30: Larvas velíferas.** A) Larva velífera, vista posterior, se observa la concha, el ano y la boca. B) Larva velífera en su estado definitivo. Se aprecian dos valvas y el prominente velo. C) Detalle del velo. D) Detalle del velo con las dos bandas de cilios preorales en primer término (flechas) y el órgano apical al fondo. E) Detalle de los largos cilios preorales. F) Detalle de banda adoral de cilios y banda preoral de cilios. G) Velo y boca.





**Fig. 31: Larva veñigera.** Secuencia de cortes histológicos longitudinales en sentido antero-posterior. Tinción H-E. Escala: 20 μm.



**Fig. 32: Larva pediveligera.** A) Larva pediveligera. B) Detalle del pie de la larva pediveligera, obsérvese la ciliación en cepillo (flecha).

**Tabla 24:** Medidas de la prodisoconcha I (PI) y la prodisoconcha II (PII). D: disoconcha. Los ejemplares de 1-15 son pediveligeras y los ejemplares del 16-20 son juveniles "D".

Ejemplar	PI L(μm)	PII L(μm)	D L(μm)
1	182	211	-
2	179	204	-
3	168	202	-
4	169	201	-
5	178	202	-
6	181	207	-
7	177	201	-
8	180	210	-
9	171	202	-
10	186	205	-
11	195	212	-
12	186	207	-
13	181	204	-
14	187	205	-
15	183	201	-
16	197	222	705
17	195	233	836
18	186	229	868
19	190	238	890
20	182	234	930

**Tabla 25:** Estadística descriptiva de las medidas de la prodisoconcha I (PDI) y la prodisoconcha II (PDII).

	n	Min.	Max.	Media	Margen error	Desv.Stand
PDI	20	168,0	197,0	182,7	1,80	8,06
PDII	5	222,0	238,0	231,1	2,71	6,06



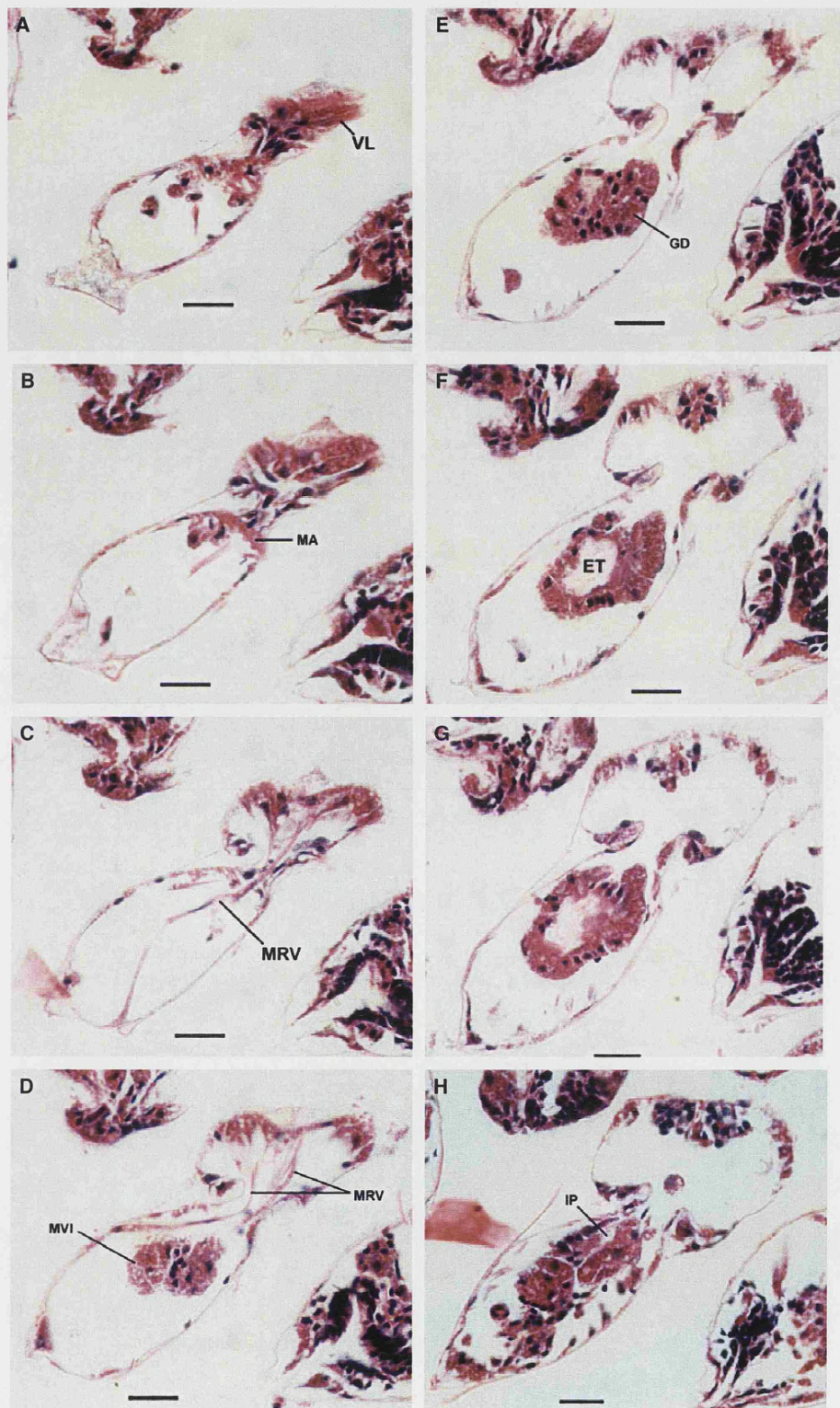


Fig. 33: Larva pediveligera. Secuencia de cortes histológicos transversales en sentido antero-posterior. Tinción H-E. Escala: 20 μm.



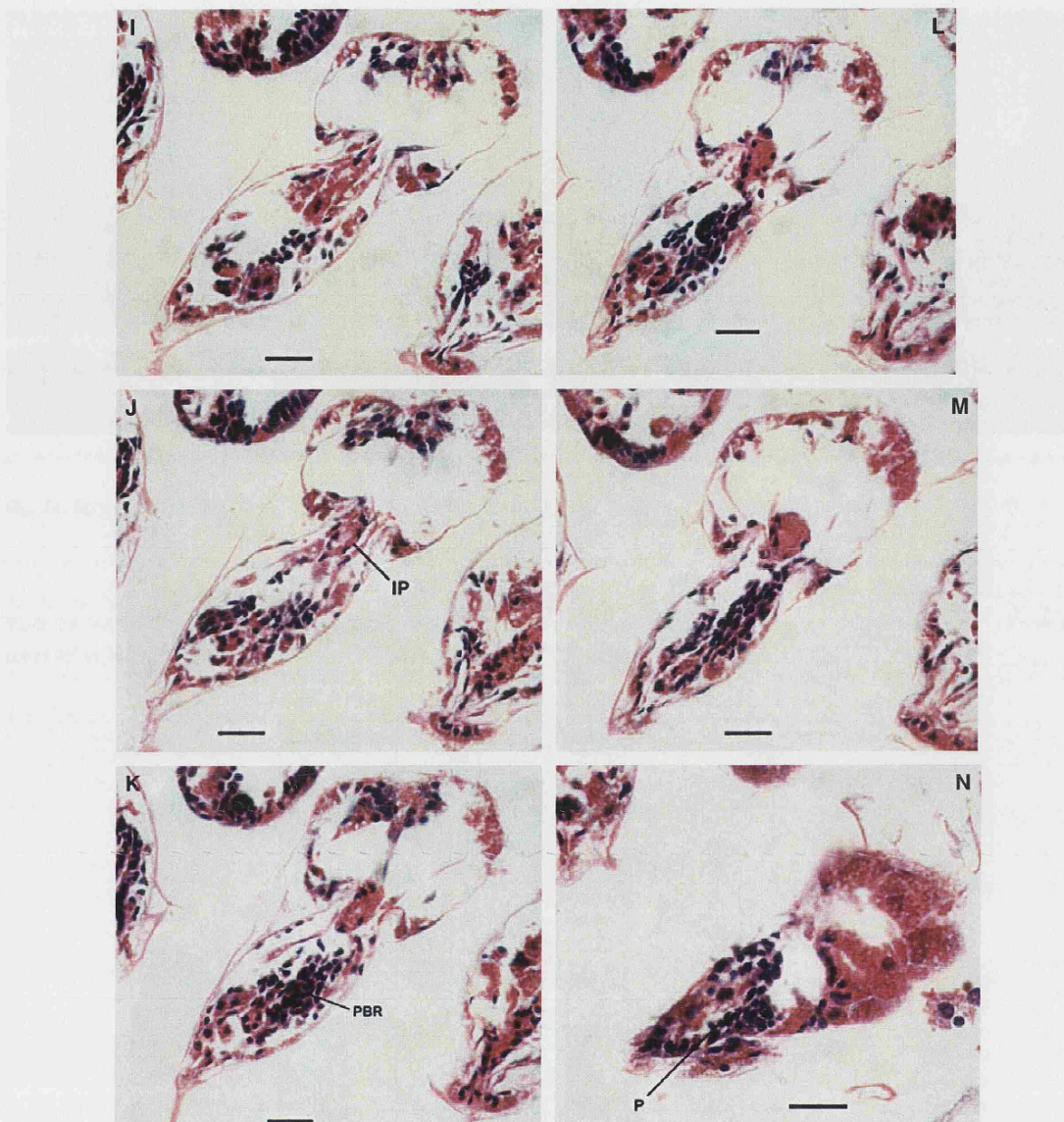


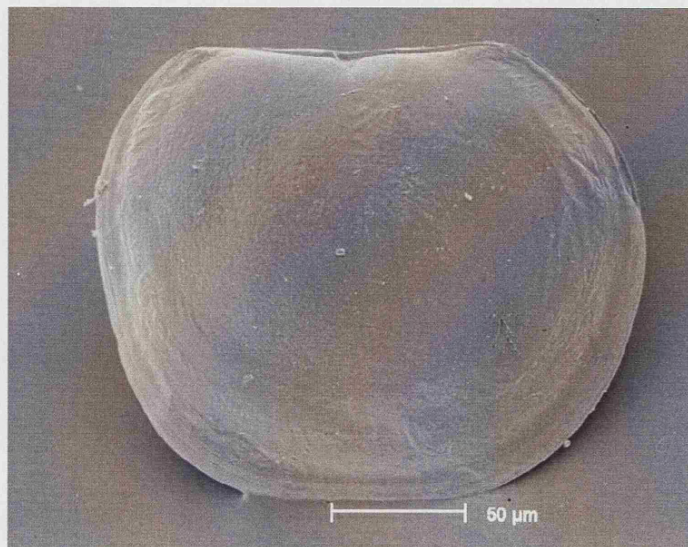
Fig. 33: Continuación.

Al microscopio electrónico de barrido se ha observado que el pie presenta una ciliación denominada “en cepillo” (fig. 32B). En una posición posterior del pie se encuentra la glándula del biso, distinguible fácilmente al microscopio óptico debido a que se tiñe con una coloración basófila muy densa.

En estados avanzados de la larva pedivelígera comienzan a visualizarse los primordios de las branquias; a ambos lados del pie en una posición ligeramente más posterior (fig. 33).

Juvenil en forma de “D” (figs. 34, 35): El paso de la larva pedivelígera a juvenil en forma de “D” se denomina, en ocasiones, metamorfosis. En *C. fluminea* el paso que marca





**Fig. 34:** Juvenil en forma de "D" o de charnela recta.

la diferencia entre la pedivelígera y el juvenil es la pérdida del velo. El resto de los órganos (digestivo, nervioso, etc.) siguen desarrollándose. La glándula del biso se mantiene hasta tamaños de concha de 2-3 mm aproximadamente y posteriormente desaparece, no observándose en ejemplares adultos.

La anatomía de los juveniles en forma de "D" es similar a la del adulto (fig. 34). La descripción que sigue se basa en ejemplares que se hallan en el interior de las demibránquias internas.

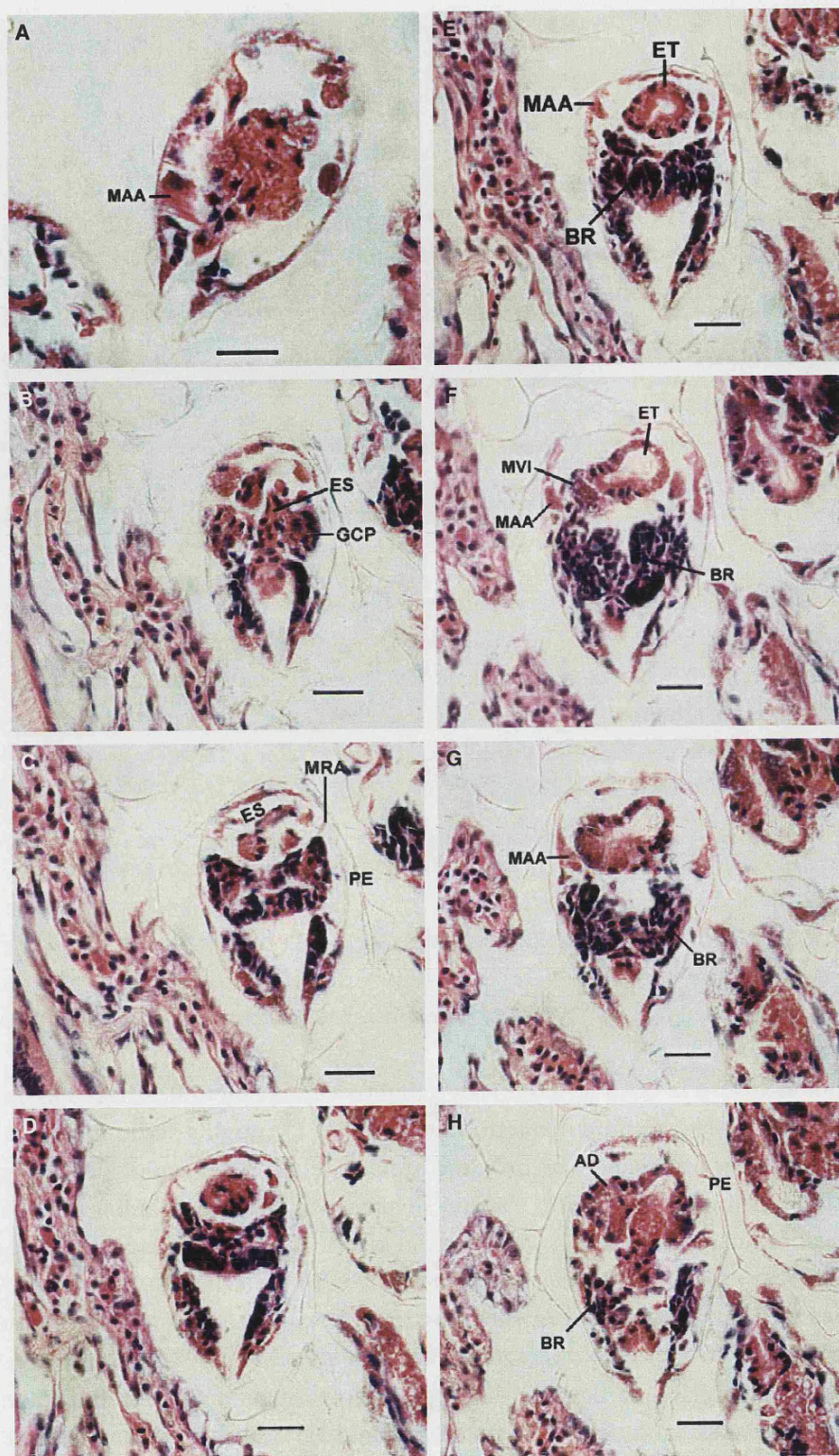
En el extremo anterior se abre la boca que continúa en un corto esófago (fig. 35B), desembocando en el estómago que está densamente ciliado en su mitad anterior (fig. 35E). En una posición ligeramente más ventral se une la glándula digestiva, compuesta por dos grandes acinos digestivos (fig. 35H-J). Del estómago parte ventralmente el saco del estilo del cual sale el intestino posterior que desemboca en el recto. Próximos a los acinos digestivos se observan dos masas de vitelo (figs. 35F, 35I).

A ambos lados de la boca se sitúan los ganglios cerebropleurales (fig. 35B), se distinguen fácilmente y presentan un diámetro de 19-20 μm. El ganglio pedio se sitúa en una posición más ventral y medioanterior, próximo al final del saco del estilo, siendo, en ocasiones, difícil de distinguir. El ganglio visceral se sitúa posteriormente a los acinos digestivos en posición dorsal respecto a la glándula del biso y anterior al músculo aductor posterior (fig. 35M).

El pie es un órgano significativamente grande (figs. 35I-N). En posición medioanterior alberga el ganglio pedio (fig. 35I), en posición posterior y ligeramente más dorsal al ganglio pedio encontramos la glándula del biso (distinguible por su aspecto fuertemente teñido). Esta glándula se sitúa a ambos lados del conducto del biso que se abre al exterior en una posición más posterior del pie (figs. 35L-N).

En juveniles de tamaños comprendidos entre 200 y 250 μm de longitud, el músculo aductor anterior no se diferencia claramente, debido a que por su longitud normalmente se





**Fig. 35:** Secuencia de cortes histológicos de juvenil en forma de "D" incubado en las demibranquias internas. Corte transversal con sentido anterior-posterior. Tinción H-E. Escala: 20 μm.



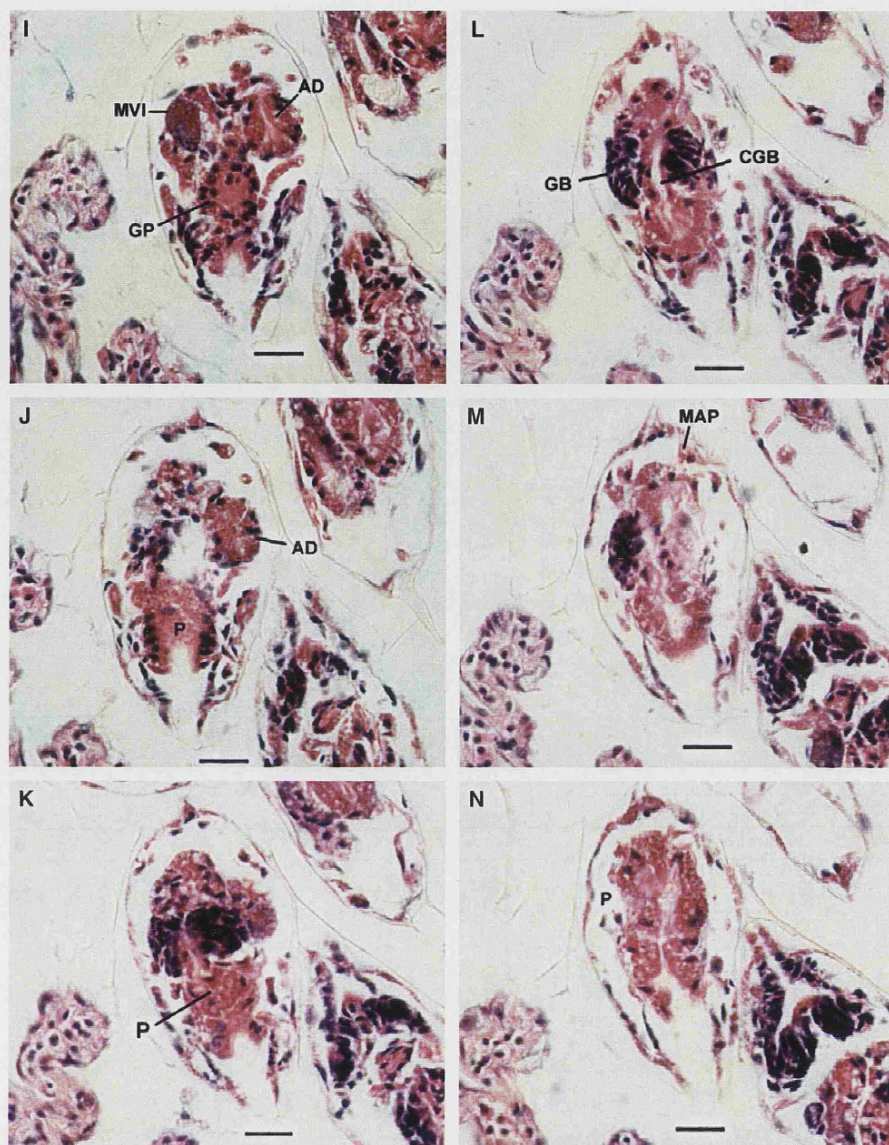
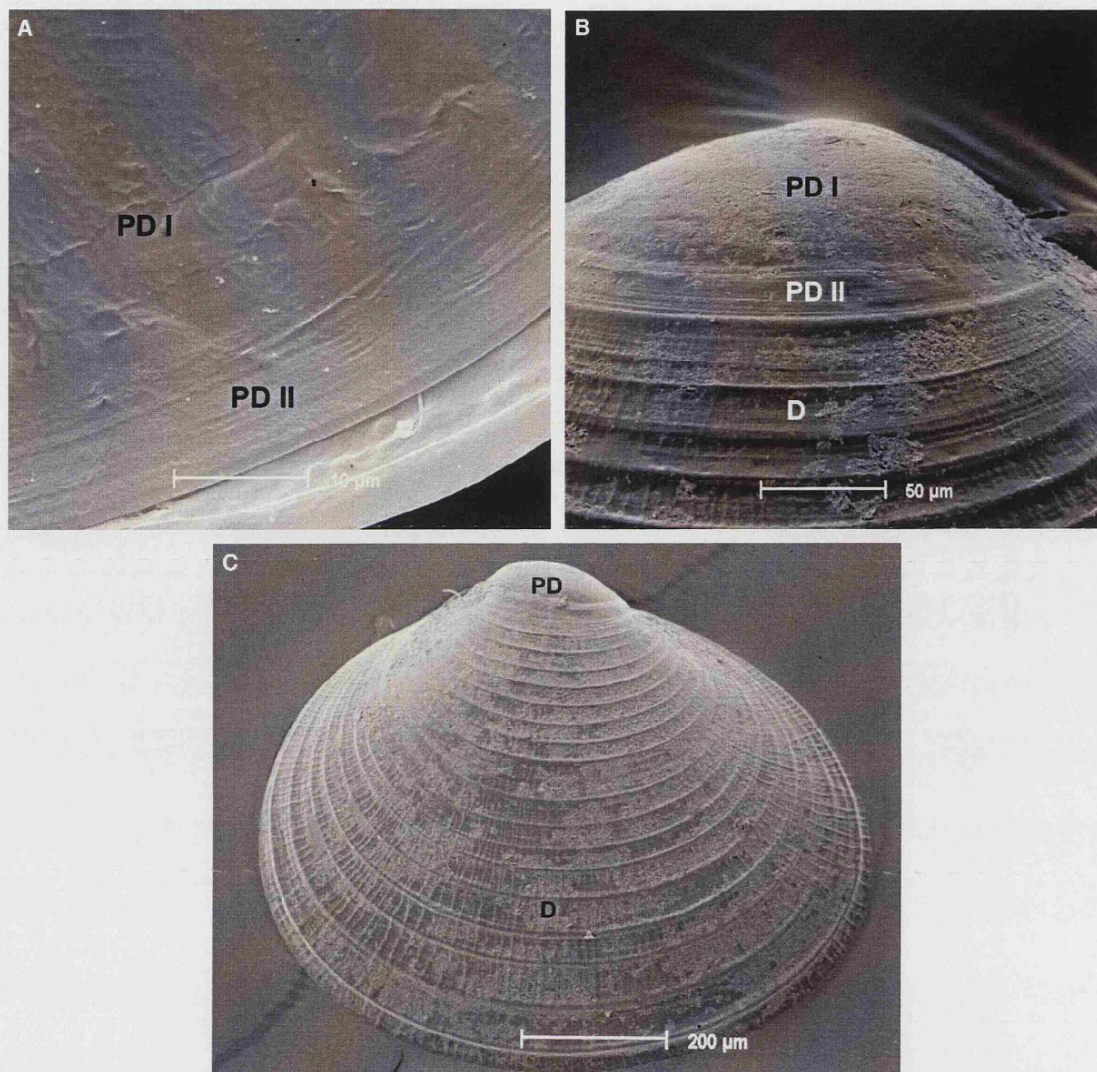


Fig. 35: Continuación.

observa destensado y en los cortes tan sólo se observan fragmentos. El músculo aductor anterior (fig. 35A) se sitúa en posición anterior respecto a los ganglios cerebropleurales, a nivel del estómago (fig. 35B). El aductor posterior es de menor longitud y se distingue claramente en el extremo posterior. Los músculos retractores posteriores se unen a las valvas en una posición más dorsal y anterior que el aductor posterior. Los retractores anteriores se unen a las valvas en posición posterior al aductor anterior.



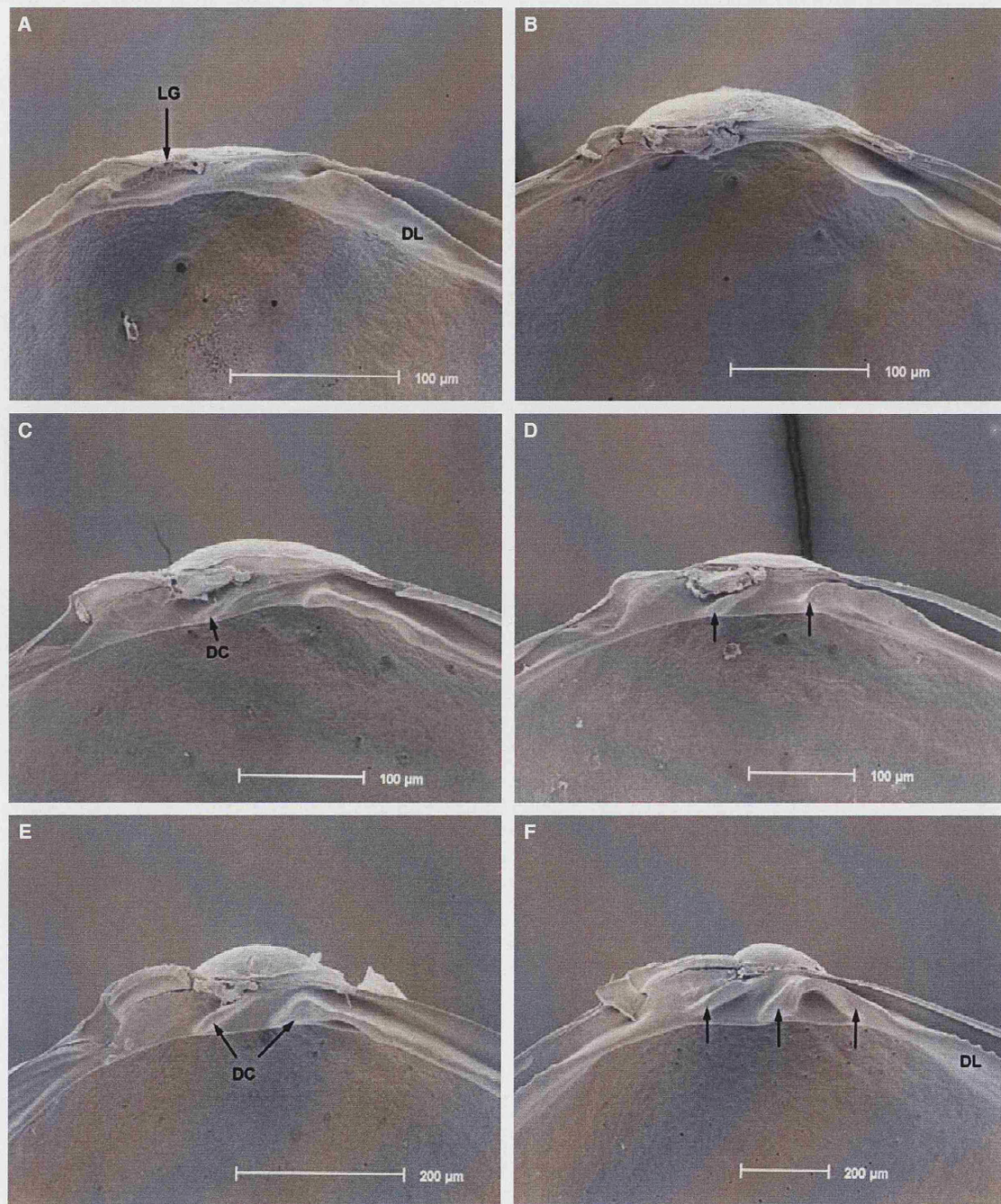


**Fig. 36: Concha larvaria y conchas de juveniles.** A) Detalle de la transición de la prodisoconcha I (PDI)-prodisoconcha II (PDII) en la valva de la larva pediveligera. B) Escultura externa de la valva de un juvenil de 930  $\mu\text{m}$  de longitud. C) Cara externa de la valva derecha de un juvenil de 836  $\mu\text{m}$ .

### EVOLUCIÓN DE LAS VALVAS

En la concha de los juveniles tempranos (0,5-2 mm) se distinguen tres zonas: la prodisoconcha I, la prodisoconcha II y la disoconcha. En la concha premetamórfica o prodisoconcha se distinguen las dos primeras zonas, formadas durante la incubación y, presumiblemente, la disoconcha se produce después de la salida de los juveniles (o larvas) de las branquias. La prodisoconcha I presenta la superficie lisa, mientras que la prodisoconcha II presenta estrías paralelas al margen de las valvas (figs. 36A y 36B). Ambas zonas están separadas por una marcada estría. La disoconcha presenta un escultura formada por anillos y estrías radiales (figs. 36B y 36C).

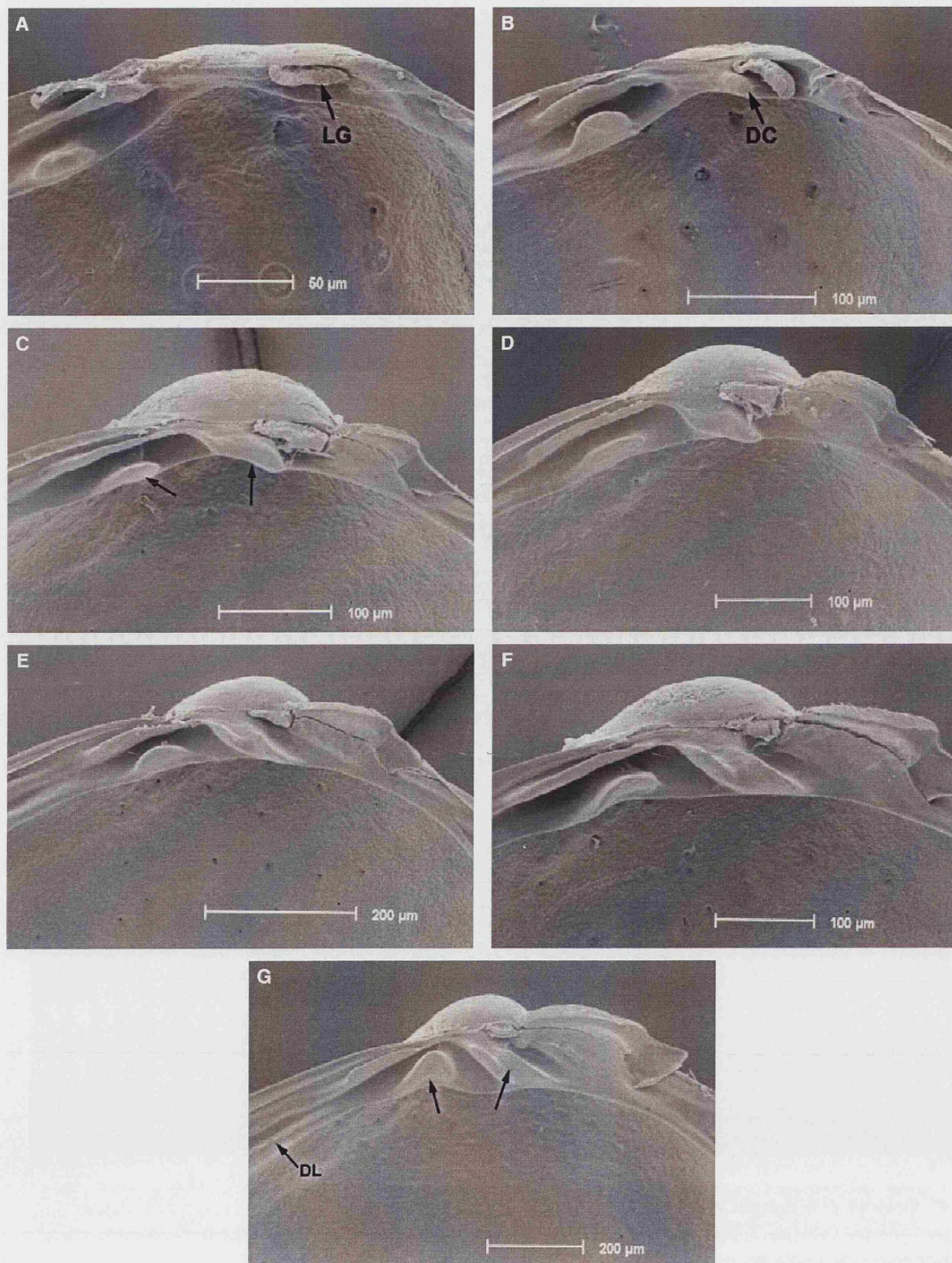




**Fig 37: Evolución de la chamela, valva izquierda.** Longitud de los ejemplares: A) 574  $\mu\text{m}$  (a este tamaño ya se aprecia el ligamento). B) 681  $\mu\text{m}$ . C) 813  $\mu\text{m}$ . D) 847  $\mu\text{m}$ . E) 1080  $\mu\text{m}$ . F) 2100  $\mu\text{m}$ , obsérvese la forma aserrada de los dientes laterales. Las flechas indican la progresiva aparición de los dientes cardinales.

La tablas 24 y 25 muestra las medidas de la PDI, la PDII y la disoconcha de los ejemplares estudiados al MEB. La media de longitud observada de la prodisoconcha I es de  $182,7 \pm 8,1 \mu\text{m}$  ( $n= 20$ ) y el de la prodisoconcha II de  $231,2 \pm 6,1 \mu\text{m}$  ( $n= 5$ ). La longitud máxima observada de la prodisoconcha II en los quince primeros individuos (que todavía no han





**Fig 38: Evolución de la charnela, valva derecha.** Longitud de los ejemplares: A) 520  $\mu\text{m}$ . B) 688  $\mu\text{m}$ . C) 882  $\mu\text{m}$ . D) 950  $\mu\text{m}$ . E) 1100  $\mu\text{m}$ . F) 1360  $\mu\text{m}$ , G) 2160  $\mu\text{m}$ , obsérvese la forma aserrada de los dientes laterales. Las flechas indican la progresiva aparición de los dientes cardinales.



formado la disoconcha) es de 212  $\mu\text{m}$  lo que indica que el crecimiento de esta fase no ha concluido.

Las juveniles recién liberados presentan la charnela recta (fig. 34) (forma de "D"), que se mantiene hasta longitudes de concha de 600  $\mu\text{m}$  aproximadamente. A partir de ese tamaño la concha desarrolla la forma umbonal que se observa en adultos (figs. 37, 38).

En conchas de 500  $\mu\text{m}$  ya se aprecia claramente el ligamento, las impresiones musculares de los músculos aductores y se observan microporos en la cara interna de las conchas (figs. 37, 38).

En conchas de 2 mm aproximadamente ya están formados los dientes de la charnela (figs. 37F, 38G). De los tres dientes cardinales, comienza a visualizarse el diente central a partir de 800  $\mu\text{m}$  de longitud de concha (figs. 37C-F, 38C-G). Los dientes laterales (figs. 37, 38) comienzan a visualizarse en tamaños de 600  $\mu\text{m}$  aproximadamente y presentan una superficie lisa; a partir de longitudes de 2 mm aparece la escultura en sierra (figs. 37F, 38 G).

## 5- DINÁMICA POBLACIONAL

Como se explicó en el método, primeramente se midió la longitud de concha de los ejemplares de cada captura (en el Apéndice 1 se muestran todas las medidas de longitud de concha de los ejemplares capturados en cada muestreo). Para la realización de los histogramas de crecimiento (fig. 39) se establecieron clases de tamaño de 1 mm.

Se ha calculado la frecuencia de cada clase de tamaño en cada captura (tabla 26) para identificar las cohortes que integran la población de *Corbicula fluminea* del río Miño.

De este modo se obtiene la tabla de cohortes A (tabla 27) con valores medios de cada cohorte en cada muestreo.

Debido a que nuestros datos no son homogéneos se tuvieron que introducir valores intermedios en la tabla de cohortes A (tabla 27). De este modo se integran en la tabla de cohortes A, los valores representados en la tabla 28 y en la tabla 29 y se obtiene la tabla de cohortes B (tabla 30). La tabla 30 presenta valores representativos de capturas quince-nales de todas las cohortes, y es con la que se irá trabajando para obtener y discutir los resultados.

Se han identificado un total de siete cohortes, coexistiendo hasta cinco cohortes en determinados muestreos (tabla 19). Las cohortes se han denominado: Cohorte -3 (C-3), cohorte -2 (C-2), cohorte -1 (C-1), cohorte 0 (C0), cohorte 1 (C1), cohorte 2 (C2) y cohorte 3 (C3).

Cuando en abril de 1994 comienza el estudio se aprecian tres cohortes, la "cohorte 1" (C1), "cohorte 2" (C2) y "cohorte 3" (C3). En el siguiente histograma, correspondiente al mes de junio, aparece una nueva cohorte, la C0. Se observa un crecimiento gradual de las cohortes que es máximo en verano, observándose al final de éste (finales de agosto) la desaparición de la cohorte de más edad, la C3; no obstante, todavía aparecen ejemplares sueltos de esta cohorte. Al entrar el otoño (medidados de septiembre) aparece una nueva cohorte, la C-1, y se observa una disminución del ritmo de crecimiento, registrándose en todas las cohortes un crecimiento muy bajo durante el invierno. A mediados de primavera de 1995 (con temperaturas del agua en torno a 15°C) comienza a aumentar notablemente el ritmo de crecimiento de las cohortes y a finales de mayo se observa la aparición de una nueva cohorte, la C-2, desapareciendo a su vez la C2. Durante los meses de verano y hasta mediados de otoño de 1995 el crecimiento continúa, siendo nuevamente máximo en la estación de verano (a temperaturas del agua por encima de 20°C). A comienzos del otoño (principios de octubre) de 1995 desaparece la C1 y se recluta una nueva cohorte, la C-3. Debido a la fuerte crecida del río durante la segunda quincena del mes de diciembre de 1995 y en enero de 1996, no se puede acceder al punto de muestreo por estar la zona anegada. Cuando se retoman los muestreos, en febrero de 1996, se observa que la crecida se ha llevado prácticamente la C0 (la más antigua) y la C-3 (recién incorporada en el otoño anterior), quedando la población básicamente compuesta por la C-2 y la C-1, aunque dominada por la C-2 (incorporada en la primavera de 1995) y observándose un descenso considerable de los ejemplares que conformaban la C-1 (reclutada en la primavera de 1994).

Tabla 26: Frecuencia de cada intervalo de tamaño (de 1 mm) de los ejemplares de *C. fluminea* en cada captura.

Capturas	1	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36		
Intervalos																																					
0--1	0	0	0	0	0	0	26	36	16	16	9	26	10	11	5	7	1	0	0	3	0	0	0	3	0	0	0	2	11	14	0	0	0	0	0	0	0
1--2	3	0	0	0	5	51	214	223	180	91	178	92	85	17	6	12	7	0	34	16	5	0	1	0	0	0	0	8	9	17	10	1	0	0	1	0	0
2--3	11	1	0	0	14	42	75	37	71	22	86	72	13	5	6	14	1	3	12	46	17	10	1	0	1	0	1	0	1	11	5	5	0	0	1	0	0
3--4	7	3	7	0	18	47	43	53	66	18	55	53	21	20	35	27	26	4	16	23	8	42	17	3	2	6	0	3	4	9	11	1	5	2	0	0	0
4--5	5	3	18	0	15	23	34	54	48	15	31	25	20	35	27	23	14	11	16	23	8	42	42	12	6	5	0	4	3	5	16	3	2	10	0	0	
5--6	2	2	21	1	3	6	31	51	37	20	20	7	17	37	30	10	15	12	56	26	4	41	75	36	16	11	5	1	2	5	13	2	6	8	2	4	
6--7	0	0	17	8	1	1	3	32	10	13	9	2	7	21	16	3	13	13	88	21	9	32	62	42	22	30	13	10	10	7	20	4	7	20	4	0	
7--8	2	1	11	11	1	1	1	5	3	3	4	2	9	6	10	0	6	7	36	25	8	25	47	28	21	51	27	22	15	7	24	9	19	25	8	1	
8--9	0	11	3	28	3	7	0	1	1	1	1	1	4	2	3	2	9	2	11	21	17	23	37	19	11	61	24	41	43	21	13	24	24	16	21	0	
9--10	1	13	4	42	11	8	0	0	2	0	1	0	0	10	7	8	0	10	4	1	6	9	26	17	16	18	48	30	48	36	38	15	31	32	16	30	
10--11	3	9	2	33	12	7	2	1	1	0	1	0	1	11	6	13	3	14	8	2	1	3	16	9	20	19	35	17	41	36	35	9	18	23	25	30	
11--12	0	14	2	12	22	7	1	1	0	1	0	1	11	6	13	3	14	8	2	1	5	15	10	11	16	21	16	27	42	22	7	30	18	21	49	0	
12--13	8	25	3	7	11	8	0	0	2	0	2	0	13	3	6	7	16	18	0	3	20	4	2	2	12	4	1	7	20	19	4	19	10	22	31	0	
13--14	6	37	1	2	5	13	0	2	3	6	3	0	13	4	14	5	15	23	3	3	20	4	2	2	12	4	1	7	20	19	4	19	10	22	31	0	
14--15	2	31	8	1	8	13	0	2	0	5	1	1	9	4	5	3	17	29	9	7	19	1	0	0	16	4	1	6	16	13	2	13	9	17	19	0	
15--16	3	28	19	3	7	7	0	4	0	8	1	1	10	3	3	5	23	21	6	11	15	3	2	0	16	4	2	2	2	5	2	3	2	5	20	0	
16--17	0	13	29	6	9	1	0	3	1	1	0	0	8	4	8	6	24	11	5	8	14	7	1	1	11	3	1	1	4	4	2	4	3	8	5	20	
17--18	1	7	25	8	16	4	0	1	0	2	0	0	9	5	9	10	12	7	2	3	14	2	4	2	8	6	1	2	6	10	1	5	5	2	3	0	
18--19	2	1	6	15	29	6	0	4	1	4	0	0	9	5	11	11	22	5	2	2	5	2	4	2	1	5	2	7	7	7	1	1	1	3	1	0	
19--20	2	6	1	10	25	6	0	7	0	9	2	0	6	5	6	12	10	3	7	1	9	1	2	3	11	3	2	0	2	5	1	0	2	3	6	3	
20--21	4	2	2	9	10	5	0	9	2	17	6	0	6	0	7	17	5	7	9	3	11	3	0	2	10	0	2	1	2	8	1	2	1	6	3	0	
21--22	3	7	1	3	0	0	11	2	13	4	0	7	0	7	0	6	10	4	15	20	6	3	1	0	4	8	0	3	0	6	5	0	2	1	11	1	
22--23	0	7	2	2	2	0	0	2	2	1	1	0	3	1	1	3	11	8	12	14	12	4	5	0	3	15	1	4	0	7	3	0	1	1	6	0	
23--24	0	5	4	2	4	2	0	2	0	1	1	0	4	2	1	2	1	3	3	5	3	5	0	3	6	1	11	0	5	8	0	1	0	4	0	0	
24--25	0	2	5	2	2	2	0	0	0	2	3	0	8	3	1	3	1	1	3	1	0	1	0	2	5	2	6	0	0	6	0	0	2	1	3	0	
25--26	0	1	2	2	1	0	0	1	0	0	0	0	1	1	2	2	3	0	2	3	1	0	1	0	4	3	1	4	0	4	3	0	1	0	0	0	
26--27	0	0	0	2	0	1	0	0	0	0	5	1	0	3	1	2	2	3	0	1	2	0	0	3	2	0	1	0	1	0	0	1	0	0	2	0	
27--28	0	1	1	0	2	2	0	1	0	1	3	0	4	0	0	2	2	0	3	1	0	1	0	3	2	0	1	0	2	0	0	1	0	1	0	0	
28--29	0	0	0	0	0	0	0	1	0	2	1	0	1	0	0	1	1	0	1	0	1	0	1	0	4	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
29--30	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	1	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
30--31	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
31--32	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	2	0	0	0	0	3	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	
32--33	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	

**Tablas 27-29: 27)** Tabla A de cohortes con los valores medios de longitud de concha y desviación estándar representativos de cada cohorte en cada captura. **28)** Valores medios de longitud de cada cohorte, introducidos en las capturas 6 a 13. **29)** Valores medios de longitud de cada cohorte, introducidos en las cinco primeras capturas.

27

Cohortes	C-3	C-2	C-1	C0	C1	C2	C3
<b>Captura</b>							
1					3,3 ± 1,5	11,9 ± 1,5	20,6 ± 2,2
2							
3				4,3 ± 1,2	9,5 ± 0,8	14 ± 1,6	22,4 ± 1,9
4				5,7 ± 1,4	11,4 ± 1,3	16,4 ± 1,2	23,6 ± 3,5
5				9,7 ± 1,6	18,1 ± 1,4	22,0 ± 1,4	
6			3,3 ± 1,1	11,2 ± 1,4	18,1 ± 1,6	24,7 ± 1,4	
7 -- 14			3,5 ± 1,5				
15			5,1 ± 1,2	12,7 ± 2,2	19,2 ± 2,0	25,3 ± 0,8	
16			5,7 ± 1,3	12,2 ± 1,6	19,6 ± 1,7	27,8 ± 2,3	
17			3,9 ± 1,3	13,0 ± 1,2	20,1 ± 2,0	27,1 ± 1,7	
18			5,6 ± 1,3	13,8 ± 2,0	20,5 ± 1,9	27,5 ± 1,6	
19			5,3 ± 1,6	14,2 ± 1,7	22,1 ± 1,6		
20		1,7 ± 0,5	6,4 ± 1,1	14,4 ± 1,9	21,9 ± 1,3	26,9 ± 1,9	
21		3,2 ± 1,1	7,5 ± 1,1	15,4 ± 1,4	22,5 ± 1,3		
22		3,4 ± 1,3	8,3 ± 1,2	15,4 ± 1,6	20,9 ± 1,6		
23		5,2 ± 1,5	9,8 ± 1,9	17,4 ± 1,3	22,8 ± 1,5		
24		6,1 ± 1,2	11,3 ± 1,2	17,7 ± 1,2			
25		6,4 ± 1,3	10,5 ± 1,2	21,0 ± 1,5	26,5 ± 1,9		
26		6,8 ± 1,5	15,1 ± 2,3	21,4 ± 1,4	25,4 ± 1,9	30,5 ± 1,3	
27		8,9 ± 1,9	17,0 ± 0,9	25,0 ± 0,8			
28	1,4 ± 0,5	8,9 ± 1,7	17,8 ± 1,5	24,4 ± 1,4			
29	1,8 ± 1,8	9,8 ± 1,9	17,8 ± 1,5				
30	1,1 ± 0,8	10,1 ± 1,8	17,6 ± 1,2	23,9 ± 1,8			
31	3,5 ± 0,9	11,3 ± 2,1	18,2 ± 1,1	24,2 ± 1,7			
32		11,1 ± 1,4					
33	4,7 ± 0,8	10,9 ± 2,0	17,8 ± 1,1				
34		10,3 ± 2,1	18,2 ± 1,6	23,7 ± 1,0			
35	4,9 ± 0,7	11,7 ± 1,9	20,8 ± 2,2				
36		11,7 ± 2,2	20,1 ± 0,7				

28

Capturas	C-1	C0	C1	C2+3
6	3,3	11,2	18,1	24,7
7	3,5	11,4	18,2	24,8
8	3,7	11,5	18,3	24,8
9	3,9	11,7	18,5	24,9
10	4,1	11,8	18,6	24,9
11	4,3	12,0	18,7	25,0
12	4,5	12,2	18,8	25,1
13	4,7	12,3	18,9	25,1
14	4,9	12,5	19,0	25,2
15	5,1	12,7	19,2	25,3

29

Capturas	C0	C1	C2	C3
1		3,3	11,9	20,6
		4,9	12,5	21,0
		6,4	13,0	21,5
		8,0	13,5	22,0
3	4,3	9,5	14,0	22,4
	5,0	10,5	15,2	23,0
4	5,7	11,4	16,4	23,6
	7,7	14,8		
5	9,7	18,1	24,7	
	10,5	18,1		
6	11,2	18,1	24,7	



**Tabla 30:** Tabla B de cohortes, con los valores medios de longitud de cada cohorte en cada captura.

Cohorte	C-3	C-2	C-1	C0	C1	C2	C3
Captura							
1					3,3	11,9	20,6
					4,9	12,5	21,0
2					6,4	13,0	21,5
					8,0	13,5	22,0
3				4,3	9,5	14,0	22,4
				5,0	10,5	15,2	23,0
4				5,7	11,4	16,4	23,6
				7,7	14,8		
5				9,7	18,1	22,0	**
				10,5	18,1	23,3	
6			3,3	11,2	18,1	24,7	
7			3,5	11,4	18,2	24,8	
8			3,7	11,5	18,3	24,8	
9			3,9	11,7	18,5	24,9	
10			4,1	11,8	18,6	24,9	
11			4,3	12,0	18,7	25,0	
12			4,5	12,2	18,8	25,1	
13			4,7	12,3	18,9	25,1	
14			4,9	12,5	19,0	25,2	
15			5,1	12,7	19,2	25,3	
16			5,7	12,2	19,6	27,8	
17			3,9	13,0	20,1	27,1	
18			5,6	13,8	20,5	27,5	
19			5,3	14,2	22,1		
20		1,7	6,4	14,4	21,9	26,9	
21		3,2	7,5	15,4	22,5		
22		3,4	8,3	15,4	20,9		
23		5,2	9,8	17,4	22,8		
24		6,1	11,7	17,7			
25		6,4	10,5	21,0	26,5		
26		6,8	15,1	21,4	25,4	30,1	
27		8,9	17,0	24,0			
28	1,4	8,9	17,8	24,4			
29	1,8	9,8	17,8				
30	1,1	10,1	17,6	26,1			
31	3,5	11,3	18,2	24,2			
32		11,1					
33	4,7	10,9	17,8				
34	4,7	10,3	18,2	23,7			
35	4,9	11,7	18,1	24,1			
36		11,7	20,1				
	C-3	C-2	C-1	C0	C1	C2	C3

Se han observado dos reclutamientos de juveniles al año, un reclutamiento en primavera y otro en otoño, siendo la C-1 y la C-3 cohortes de otoño y la C-2 cohorte de primavera.

Como se puede observar en la tabla 31 el crecimiento es mucho menor en invierno y aumenta gradualmente de primavera a verano, donde es máximo. Se observa que todas las cohortes crecen en las estaciones cálidas (mediados de primavera, verano y principios de otoño) entre 6 y 13 mm; disminuyendo radicalmente el crecimiento en las estaciones frías (finales de otoño e invierno), con un crecimiento de 2-3 mm aproximadamente (tabla 31). No se puede especificar si el crecimiento llega a ser nulo a las temperaturas mínimas registradas (9-10°C, diciembre 1994 y enero de 1995) porque corresponde a las capturas donde

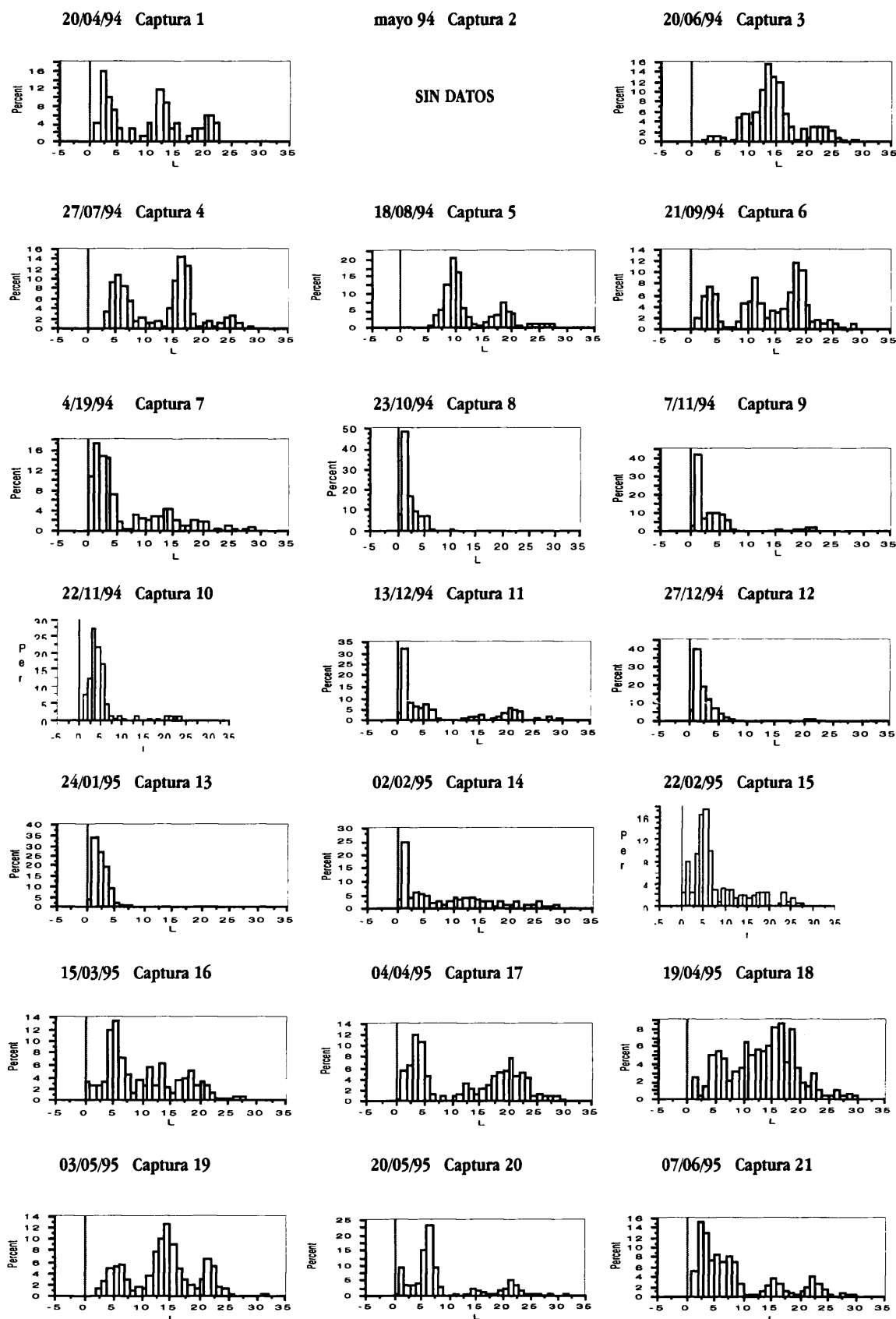


Fig 39: Histogramas de crecimiento de la población de *Corbicula fluminea* en el río Miño durante 1994-1996.

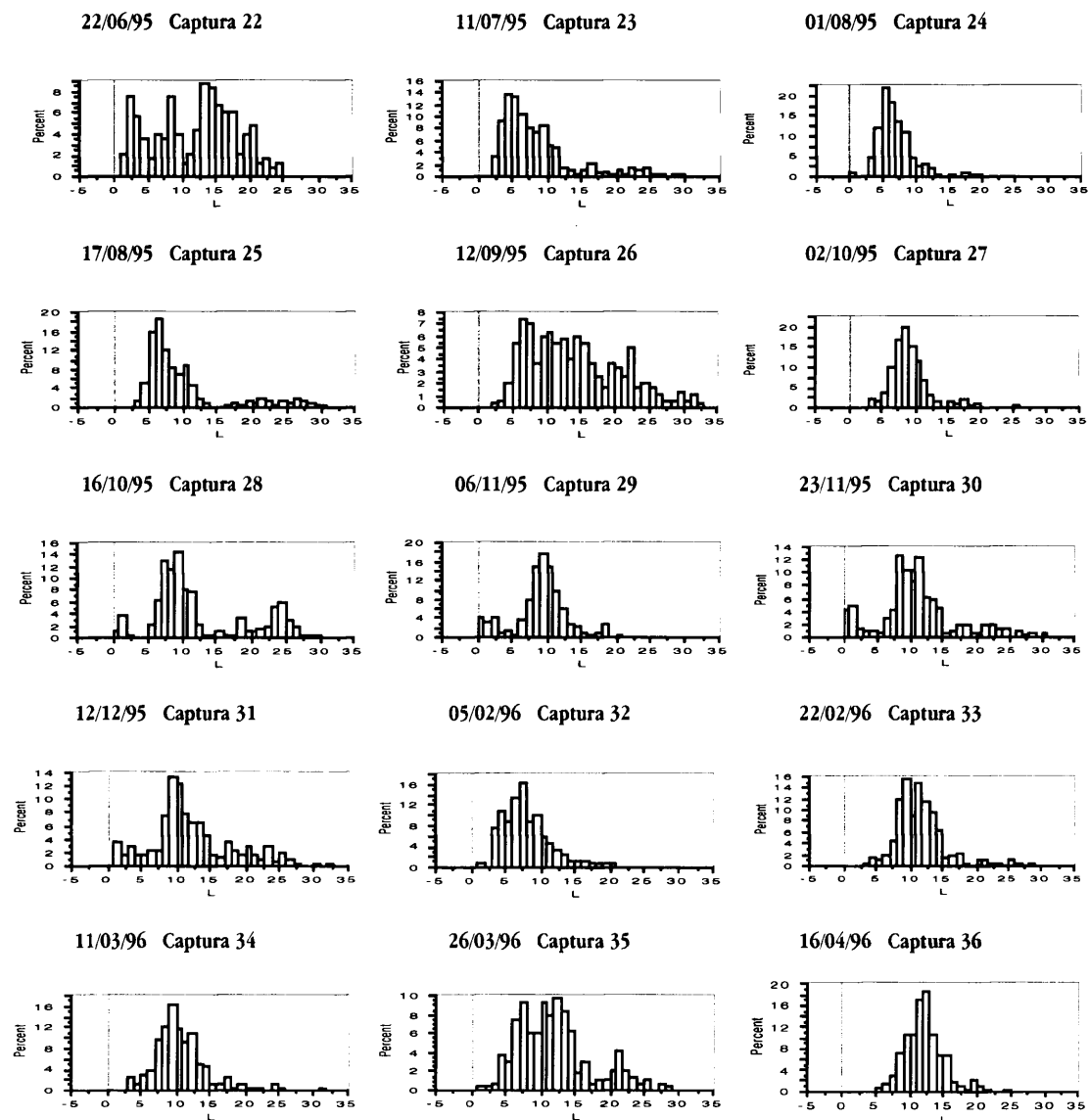


Fig 39: Continuation.

el método sólo daba valores de la cohorte fuertemente dominante (C-1) y se extrapolaron los valores medios del resto de cohortes.

El crecimiento de cada cohorte durante las estaciones cálidas del año 1994 fue ligeramente mayor que el registrado durante las mismas estaciones el año siguiente (1995). Se registraron aumentos de tamaño de 8 a 13 mm durante 1994 y crecimientos de 6 a 11 mm durante 1995. En 1994 se registraron crecimientos aproximados de 12 mm para la C2, de 13 mm para la C1 y de 8 mm para la C0 respectivamente. En 1995 los crecimientos fueron de 10 mm para la C0, de 11 mm para la C-1 y de 6 mm para la C-2 aproximadamente. Los crecimientos de las cohortes de más edad son aproximados, debido a un solapamiento de ejemplares de diferentes cohortes.

**Tabla 31:** Crecimiento (Cr) de las cohortes en las estaciones cálidas frente a las estaciones frías (Oto.: estación de otoño, Pri.: estación de primavera).

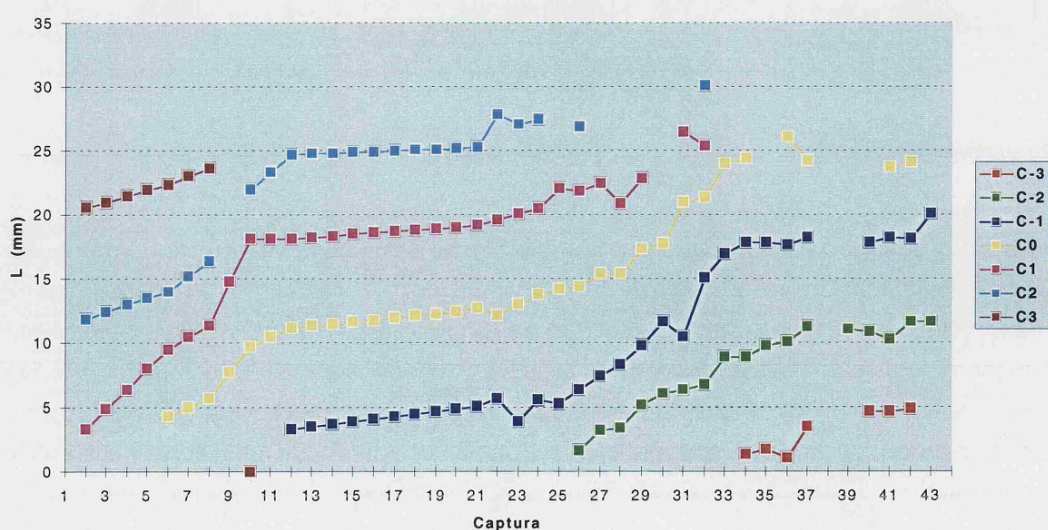
	Pri. 93	Oto. 93	Pri. 94	Oto. 94	Pri. 95	Oto. 95	Pri. 96
		Cr	Cr	Cr	Cr	Cr	Cr
C2	(2-3 mm)		12,5 mm	25 mm	27 mm		
C1		(2-3 mm)	5 mm	18 mm	22 mm		
C0			2-3 mm	11 mm	14,4 mm	24 mm	
C-1				2-3 mm	6,5 mm	18 mm	20 mm
C-2					2-3 mm	9 mm	12 mm
C-3						1-2 mm	5 mm

Durante las estaciones cálidas, se observa en los dos años un crecimiento ligeramente superior de las cohortes reclutadas en otoño (la C1 y la C-1) respecto a las cohortes de primavera (la C2, la C0 y la C-2 respectivamente).

La Cohorte 1 (reclutada en otoño de 1993) llega al pulso de primavera de 1994 con una longitud media de 5 mm y al pulso de otoño de 1994 (con un año de vida) con 18 mm aproximadamente.

La Cohorte 0 (incorporada en primavera de 1994) llega al pulso de otoño con una longitud media de 11 mm y al pulso de primavera de 1995 (con un año de vida) con 14,5 mm aproximadamente.

La Cohorte -1 (reclutada en otoño de 1994) llega al pulso de primavera de 1995 con un tamaño medio de 6,5 mm y al pulso de otoño de 1995 (con un año de vida) con 18 mm aproximadamente.



**Fig. 40:** Crecimiento de todas las cohortes durante el estudio; obsérvese el crecimiento estacional de las cohortes. L (mm) representa el valor medio de la longitud de concha de cada cohorte.



La Cohorte -2 (incorporada en primavera de 1995) llega al pulso de otoño de ese mismo año con una longitud media de 9 mm y al pulso de primavera de 1995 (con un año de vida) con 12 mm aproximadamente.

Durante su primer año de vida ambas cohortes de otoño (C1 y C-1) alcanzan longitudes medias de 18 mm aproximadamente y las cohortes de primavera (C0 y C-2) tallan 14,5 y 12 mm respectivamente.

En base a la cantidad de ejemplares medidos (9.705 individuos) se considera que la Longitud potencial máxima (Loo) de *Corbicula fluminea* en el río Miño corresponde a la del ejemplar más grande capturado, de modo que la Loo corresponde a 32 mm.

Analizando la tabla de cohortes B (tabla 30) se puede deducir que la vida media de *Corbicula fluminea* en el río Miño es de aproximadamente dos años.



# **DISCUSIÓN**





## BIOLOGÍA REPRODUCTORA

### ANATOMÍA, DESARROLLO Y MADURACIÓN DE LA GÓNADA

La población de *Corbicula fluminea* del río Miño puede ser considerada como hermafrodita funcional según el concepto de COE (1943) o hermafrodita simultánea en base al término de HOAGLAND (1984), debido a que presenta simultáneamente gametos de ambos sexos (espermatozoides y ovocitos maduros) en la gónada. Las poblaciones asiáticas de *Corbicula fluminea* han sido descritas como dioicas (CHEN *et al.*, 1994; LEE Y CHUNG, 1980; MORTON, 1983), hermafroditas protándricas (MORTON, 1977) y hermafroditas simultáneas (IKEMATSU Y YAMANE, 1977; MORTON, 1983; CHEN *et al.*, 1994; KONISHI *et al.*, 1998). Sin embargo, en Norteamérica y Suramérica, es considerada una especie hermafrodita simultánea (KRAEMER, 1978; ENG, 1979; KENNEDY Y VAN HUEKELEM, 1985). El término de hermafroditismo simultáneo es asimismo aplicable a otro grupo de bivalvos dulceacuícolas, la familia Sphaeriidae (ARAUJO, 1995). Por otra parte, las especies de *Corbicula* que habitan aguas salobres, normalmente descritas como *C. fluminalis* en Europa y Asia o como *C. japonica* en Japón, son especies dioicas y presentan una gran diferencia respecto a las especies de agua dulce, y es que son especies no incubadoras con larvas nadadoras de vida libre (MORTON, 1986; KORNIUSHIN Y GLAUBRECHT, 2003).

En cuanto a la topografía gonadal, la población de *C. fluminea* estudiada no presenta localizaciones definidas para cada sexo, sino que los folículos hermafroditas y/o mixtos, los femeninos y los masculinos están mezclados en todo el área gonadal. Ésta distribución característica diferencia a *C. fluminea* del otro grupo de pequeños bivalvos de agua dulce (familia Sphaeriidae), donde los dos sexos se mantienen topográficamente separados, los testículos en una región más anterior y posteriormente se sitúan dos pequeños ovarios (ARAUJO Y RAMOS, 1997). En la especie suramericana *Neocorbicula limosa* la gónada masculina ocupa la región ventral de la masa visceral mientras que la femenina se restringe a la mitad superior de la masa visceral (ITUARTE, 1986).

Las células foliculares no forman una pared engrosada en los folículos y/o acinos gonadales como en *Mya arenaria* Linnaeus, 1758 (COE Y TURNER, 1938) y en otros bivalvos de los géneros *Teredo* Linnaeus, 1758, *Bankia* Gray, 1842, *Mya* Linnaeus, 1758, *Petricola* Lamarck, 1801, *Barnea* Risso, 1826 (COE, 1943b) y *Neocorbicula limosa* (Maton, 1811) (ITUARTE, 1986). En los folículos gonadales de *Corbicula fluminea*, las células germinales son los elementos dominantes, distribuyéndose las pequeñas células foliculares en la periferia de los acinos, modelo igualmente descrito para especies de *Ostrea* Linnaeus, 1758, *Pecten* Müller, 1776 y *Mytilus* Linnaeus, 1758 (COE, 1943b). La falta de gránulos o inclusiones en el interior de las células foliculares, sugiere que éstas probablemente no desempeñen ninguna función nutricia como normalmente se atribuye a estas inclusiones (COE Y TURNER, 1938).

Ni la disposición de los folículos mixtos en la gónada, ni la de las dos líneas germinales en los folículos, coincide con lo citado por KRAEMER (1978 y 1986), que describe los folículos masculinos de *Corbicula fluminea* ubicados en cuatro zonas concretas dentro de la

masa visceral y dentro de los folículos hermafroditas, situados en disposición periférica a los femeninos. En la población estudiada no hemos observado localizaciones concretas de cada línea germinal, sino una disposición de los folículos masculinos y/o fracción masculina de los mixtos en cualquier punto de la gónada dentro de la masa visceral. Además se ha observado que los folículos mixtos pueden presentar dos disposiciones. En la más habitual observamos una zona concreta ocupada por línea germinal femenina y otra zona por masculina y en menor medida se observan folículos mixtos con ambas líneas germinales mezcladas.

En *C. fluminea* un parénquima de tejido conjuntivo denso y abundante rellena los espacios entre los folículos gonadales y el digestivo; mientras que en otros bivalvos tales como *Mya arenaria* (COE Y TURNER, 1938) o *Neocorbicula limosa* (ITUARTE, 1986) se observa un tejido conjuntivo de relleno laxo y escaso. A través de un análisis estereológico del tejido gonadal y del tejido conectivo interfolicular de una población de *C. fluminea* de Maryland a lo largo de un año de estudio (KENNEDY Y VAN HUEKELEM, 1985), se determinó que el tejido conectivo era el predominante en la masa visceral.

En cuanto a la anatomía del sistema genital, MACKIE (1984) resume, en un diagrama muy aclaratorio, la anatomía de los diferentes sistemas reproductores de los bivalvos hermafroditas; desde el sistema más simple en donde las gónadas evacúan los gametos a través de un corto gonoducto al riñón y de ahí a la cámara suprabranquial; hasta el sistema más complejo en donde las gónadas están separadas espacialmente y nos encontramos tres conductos de evacuación, un conducto para cada tipo de gameto y un tercero para el nefridioporo. La mayoría de los bivalvos hermafroditas funcionales tienen gónadas con acinos femeninos y masculinos en regiones separadas, de modo que una fracción de la gónada se comporta como testículo mientras que la otra actúa de ovario (MACKIE, 1984). La diferencia básica entre especies radica en la localización del gonoducto. *Pecten irradians* (Lamarck, 1819) no presenta gonoducto como tal y evacúa los gametos en la zona dorsal del riñón (MACKIE, 1984), en *Teredo digensis* P. Bartsch, 1916 y en la familia Sphaeriidae existe un conducto de evacuación común para ambos gametos y desemboca en la zona ventral del riñón o en una papila común a la abertura renal (COE, 1943b). *Neocorbicula limosa* presenta ambas gónadas separadas, pero los conductos de evacuación son comunes vertiendo a la cámara suprabranquial por orificios genitales que no presentan labios o papilas (ITUARTE, 1986). La gónada de las especies hermafroditas de *Anodonta* presenta un conducto hermafrodita pero desemboca separadamente de la abertura renal (HEARD, 1975). Igualmente *C. fluminea* presenta dos pares de orificios separados, los gonoporos y los orificios renopericárdicos (figs. 8B, 8C, 9D, 9E) (en posición dorsal respecto a los primeros), y ambos vierten a las cámaras suprabranquiales de las demibranquias internas.

El único autor que estudia el desarrollo y la diferenciación de la gónada en *C. fluminea* es KRAEMER (1978), que describió en individuos de 2-3 mm la presencia de tejido gonadal primordial en posición adyacente al intestino. En estos tamaños Kraemer (1978) describe el gonoducto y en individuos de 3-4 mm ya están formados los gonoporos. Nosotros hemos observado en ejemplares de 1 mm la masa de células germinales, concretamente en el límite dorsal-posterior de la masa visceral, en posición ventral respecto a los orificios renales y a la cavidad pericárdica, pero a estos tamaños (2-3 mm), no está definida la región del gonoducto.

En la población de *C. fluminea* estudiada, ambas líneas germinales se diferencian sexualmente al mismo tiempo, de modo que en ejemplares de 6-7 mm se pueden diferenciar las células de las dos líneas sexuales. Algo similar ocurre en *Neocorbicula limosa*, en donde ambas fracciones genitales ya se encuentran definidas en individuos de 7 mm (ITUARTE, 1986), pero representa una gran diferencia con respecto a la población de *C. fluminea* de Arkansas (KRAEMER, 1986), en donde primero se diferencian los folículos ovogénicos, no diferenciándose los folículos espermatoogénicos hasta que está muy avanzada la ovogénesis. Por ello KRAEMER (1986) describe *C. fluminea* como una especie protoogámica. Como se ha descrito anteriormente, en *C. fluminea* del río Miño, a partir del grupo de células germinales se desarrolla la gónada primaria (con gonias indiferenciadas y células foliculares) que desarrolla canales foliculares en los que se diferenciarán simultáneamente las dos líneas sexuales.

Aunque ambas líneas germinales están diferenciadas sexualmente, es la fracción femenina la que primero completa la gametogénesis. Comparando poblaciones de *C. fluminea* encontramos una gran plasticidad en cuanto a los tamaños a los que esta especie alcanza la madurez sexual. En Tennessee, SINCLAIR E ISOM (1963) citan ejemplares maduros por encima de 6,5 mm, en Texas alcanzan la madurez sexual entre 7 y 10 mm (BRITTON Y MORTON, 1982), en la población de Arkansas estudiada por KRAEMER (1978) los ejemplares están maduros por encima de 8 mm, entre 9 y 10 mm en tres poblaciones de *C. fluminea* en Taiwan (CHEN *et al.*, 1994), y son sexualmente maduros a partir de 10 mm en la población "North Central" de Texas (ALDRIDGE Y McMAHON, 1978) y en Maryland (KENNEDY Y VAN HUEKELEM, 1985). De todas las poblaciones citadas es la del Miño la que presenta los mayores tamaños para la madurez sexual. No obstante, esta diferencia puede ser debida a que cuando describimos un animal como "maduro" queremos decir no sólo que observamos gametos de ambos sexos presentes en la gónada, sino que la mayor proporción de gónada se encuentra madura, o mejor dicho, que el estado que define los folículos gonadales es "maduro".

## CICLO SEXUAL

Según MACKIE (1984), el término "spawn" es el proceso de descarga de gametos por parte de un individuo (lo que hemos descrito como procesos de evacuación). En ocasiones, este término se ha empleado para definir la época de liberación larvaria lo que puede llevar a confusiones, debido a que la evacuación de gametos suele ser anual, pero no así la liberación larvaria.

En la población estudiada de *C. fluminea* se ha observado una producción continua de gametos durante todo el año, de forma que no se puede hablar de un ciclo reproductor anual de *C. fluminea* en el río Miño. Lo mismo ocurre en Maryland (KENNEDY Y VAN HUEKELEM, 1985) y en Taiwan (CHEN *et al.*, 1994), así como en *Corbicula leana* en Japón (IKEMATSU Y YAMANE, 1977). No obstante, en una localidad norteamericana, se ha citado una población de *C. fluminea* (Lago Arlington, Texas) que presenta un ciclo sexual con perio-

dos de reposo gonadal, donde se alternan maduración y evacuación de gametos con inactividad gonadal, que coincide con los periodos de incubación branquial (WILLIAMS Y McMAHON, 1986). Por otro lado, en diferentes estados norteamericanos (en California, HEINSOHN, 1958; en Arkansas, KRAEMER Y LOTT, 1977; KRAEMER Y GALLOWAY, 1986 y KRAEMER *et al.*, 1986; en Arizona, ENG, 1979 y en Texas, BRITTON *et al.*, 1979 y BUSHEK Y CAMERON, 1992) se describe que *C. fluminea* presenta una gónada hermafrodita simultánea con oogenésis continua y espermiogénesis restringida a los meses más cálidos del año. De los casos mencionados se puede ver que, exceptuando la población de California, el resto se ubican en zonas de clima continental que suele ser más extremo que el oceánico (Maryland; río Miño, España). Se ha especulado con la idea de que la formación de espermatozoides pudiera estar estrechamente relacionada con la temperatura de agua, considerando que por encima o por debajo de un rango de temperatura (16-28°C) el proceso de la espermiogénesis se bloquea y no comienza de nuevo hasta que la temperatura del agua alcanza un punto del rango (McMAHON, 1983). Sin embargo, en la población estudiada durante los meses más fríos (diciembre-febrero), con temperaturas del agua que oscilan entre 11,5 y 9,5°C, hay un 59% de ejemplares (un total de 20 sobre 34 ejemplares, tabla 8) con la fracción masculina madura. En cambio, durante abril y mayo (meses más cálidos con temperaturas de 15-16°C) es donde menor proporción de ejemplares con espermatozoides encontramos (un 27%, 9 de 34, tabla 8). Aunque la presencia de ejemplares grávidos y el reclutamiento de juveniles coincidente con esta época (abril-mayo) nos evidencia la efectividad de la fecundación, no encontramos una respuesta clara a esta baja proporción de individuos con la fracción masculina madura, precisamente en una época donde la temperatura comienza a ascender y se observan ejemplares grávidos y reclutamiento de juveniles.

Dado que se ha demostrado la evacuación continua de gametos de ambos sexos durante todo el año, cabe preguntarse: ¿por qué no hay fecundaciones y por tanto larvas durante todos los meses del año? Se pueden considerar tres hipótesis:

- A- Aunque exista producción de espermatozoides todos los meses, éstos no son evacuados fuera de la masa visceral quedando retenidos en su interior hasta una señal (o señales) de salida (o evacuación). Ésta podría ser un cambio en las condiciones del medio, como por ejemplo un aumento en la temperatura del agua, un aumento del fitoplancton, mayor/menor oxigenación del agua, entre otras.
- B- Los espermatozoides no son viables a temperaturas del agua inferiores a las de las estaciones más cálidas (13°C), de modo que en los meses con temperaturas inferiores los espermatozoides son viables dentro de la masa visceral pero mueren o pierden movilidad al salir al agua o a las branquias.
- C- Los espermatozoides (o ambos tipos de gametos) son evacuados y son viables a cualquier temperatura, pero es la fecundación o segmentación del cigoto la que queda inhibida por la temperatura del agua u otro factor.



La primera hipótesis puede descartarse ya que se ha observado que existe evacuación de espermatozoides durante todos los meses del año, con evidencias de espermatozoides arrastrados en los folículos, en la región del gonoporo y liberados en la cámara suprabranquial de las demibranquias internas.

Puede que se trate de una combinación de las dos últimas hipótesis. En diciembre se han observado cinco cigotos (temperatura 12,7°C), pero no se han encontrado embriones ni larvas. En este mes, tampoco se ha observado evolución de los cigotos y no aparecen larvas nuevamente hasta temperaturas del agua de 15°C. Ello sugiere, que la segmentación de los cigotos y el posterior desarrollo larvario necesita temperaturas superiores a la media de este mes.

## ESTRATEGIAS REPRODUCTORAS

*Corbicula fluminea* en el río Miño se comporta como una especie iterópara con más de un periodo reproductor en su vida y con generaciones que se solapan. La iteroparidad es la estrategia adoptada por la mayoría de las especies marinas, por casi todos los Uniónidos y por muchos representantes de la familia Sphaeriidae (MACKIE, 1984). La semelparidad, condición menos extendida, ha sido descrita en algunas especies de la familia Sphaeriidae con individuos que sólo tienen un periodo de reproducción, viven dos o más años como *Pisidium amnicum* (Müller, 1774) (ARAUJO, 1995), *Pisidium variabile* (Prime, 1852) y *Musculium lacustre* (Müller, 1774) entre otros (MACKIE, 1979a).

Según Korniushin y Glaubrecht (2003) las especies de *Corbicula* que incuban generalmente presentan estrategias de la "K" (debido a que han reducido el tamaño de la puesta y se ha aumentado el cuidado parental sobre ella) si se las compara con otras especies de bivalvos ovovivíparos marinos. Igualmente ocurre en la población española de *C. fluminea*, aunque consideramos que presenta una estrategia reproductora intermedia entre los bivalvos marinos y los de la familia Sphaeriidae (con un tamaño de puesta mucho menor).

## FECUNDACIÓN / GRAVIDEZ

La fecundación cruzada es el método más habitual de reproducción en bivalvos (MACKIE, 1984), siendo lo más probable que ocurra a nivel de las cámaras suprabranquiales (SINCLAIR E ISOM, 1961, 1963 y McMAHON, 1983). La autofecundación en bivalvos siempre es "directa", resultante de la unión de ovocitos y espermatozoides provenientes de la gónada de un mismo individuo. Por otro lado, nunca puede ser "indirecta" debido a que los bivalvos no presentan órganos copulatorios (MACKIE, 1984). Según MACKIE (1984), la autofecundación es un proceso habitual en hermafroditas simultáneos y evidencias de éste fueron publicadas por THOMAS (1959) y por MACKIE (1973) en ejemplares aislados de *Musculium partumeium* (Say, 1822) y *M. securis* (Prime, 1852) que producían generaciones de juveni-

les resultantes de estos procesos. Asimismo, se han publicado evidencias histológicas de procesos de autofecundación en la familia Sphaeriidae (ARAUJO Y RAMOS, 1997).

Nuestros resultados sugieren que en *C. fluminea* se dan dos tipos de fecundación: fecundación cruzada y autofecundación. Encontramos claros ejemplos de fecundación cruzada en aquellos ejemplares de tamaños inferiores a 13-14 mm con la fracción masculina inmadura y con larvas en branquias (ejemplo: Junio ejemplar nº 5) (tabla 13). Por otro lado, debido a que *C. fluminea* es una especie hermafrodita simultánea y en un mismo periodo se pueden presentar ambos gametos dentro de los folículos gonadales y en los conductos de evacuación, pueden ser posibles procesos de autofecundación. Además, hemos encontrado evidencias histológicas de embriones intrafoliculares (fig. 25) e intragonoducto (figs. 23F, 23G).

La presencia de embriones en los folículos gonadales (embriones intrafoliculares) viene a reforzar la idea de que la autofecundación pudiera no ser infrecuente en *C. fluminea*. En ocasiones se ha apuntado la idea de que la autofecundación pudiera darse en *C. fluminea* (KENNEDY Y VAN HUEKELEM, 1985 y TSOI *et al.*, 1991) y hay publicaciones con evidencias histológicas de embriones intrafoliculares resultantes de procesos de autofecundación en esta especie (KRAEMER, 1978 y KRAEMER *et al.*, 1986) y en *C. leana* (IKEMATSU Y YAMANE, 1977). Otros autores consideran incluso que dicho proceso es el más comúnmente utilizado por *C. fluminea* (KIJVIRIYA *et al.*, 1991 y McMAHON, 2000).

Los procesos de autofecundación pueden suceder, aparentemente, en cualquier punto de la masa visceral, siendo también posible que ocurran en las demibranquias internas. De hecho, hemos observado en cortes histológicos embriones dentro de los folículos gonadales (embriones intrafoliculares), en las vías evacuatorias y en la región del gonoducto (embriones intragonoducto) presumiblemente resultantes de autofecundación. Como se ha comentado, la línea germinal femenina está madura en ejemplares de tamaños de 11 mm y la masculina madura cuando el individuo talla 14-15 mm aproximadamente. Sin embargo, se han encontrado pocos (un total de 6) ejemplares grávidos por debajo de 14 mm. Ello nos lleva a pensar que los procesos de autofecundación en branquia también son comunes, porque si no fuera así ¿por qué no encontramos un porcentaje mayor de ejemplares grávidos (resultantes de fecundación cruzada) en tamaños entre 11 y 14 mm que tienen ya la fracción femenina madura? Tanto en Japón, en *C. leana* (IKEMATSU Y YAMANE, 1977), como en Maryland para *C. fluminea* (KENNEDY Y VAN HUEKELEM, 1985), el tamaño mínimo de gravidez observado fue de 13-14 mm, si bien se hallaron ejemplares que presentaban madurez sexual con 10 mm.

De nuestro estudio histológico se destaca que la mayoría de los ejemplares con embriones branquiales también tienen embriones intrafoliculares y/o intragonoducto, así como ambas líneas germinales maduras y evacuando o recientemente evacuadas. Hemos observado esta situación durante los meses cálidos (septiembre, octubre de 1994 y a partir de junio de 1995). Tan sólo en el mes de febrero (con temperaturas de 11,2°C) se han observado ejemplares con embriones intrafoliculares e intragonoducto pero sin embriones en branquia. Como se describe más adelante a estas temperaturas no se ha observado desarrollo larvario en branquias, de modo que posiblemente estos embriones se han formado protegidos térmicamente por la masa visceral.

Sólo se han encontrado dos ejemplares con embriones en la branquia que no tenían embriones intrafolículos, un ejemplar de 18 mm de noviembre y otro de 13,5 mm de junio (tabla 13). El primer individuo es el único que presentando ambas fracciones genitales maduras y evacuando, no tiene embriones intrafolículos y el segundo ejemplar tiene la línea germinal masculina fundamentalmente premadura, por lo que se puede ajustar a los casos descritos de gravidez por fecundación cruzada.

En cuanto a los embriones intragonoducto, consideramos que, o bien se han formado en la propia zona del gonoducto, o son embriones intrafolículos arrastrados desde los folículos gonadales durante los procesos evacuatorios.

Hemos observado dos ejemplares que tienen embriones intragonoducto pero no presentan embriones intrafolículos ni branquiales (ej. 13,2 mm de noviembre y ej. 12,6 mm de julio) (tabla 13). El origen de estos embriones es incierto, ya que ambos ejemplares presentan la fracción masculina fundamentalmente premadura. Por estar dentro de la masa visceral posiblemente son resultado de autofecundación, de modo que puede haber pequeñas fracciones masculinas ya maduras que han generado estos embriones.

Considerando que la branquia es el lugar apropiado para la incubación y desarrollo de los embriones y larvas, no está claro que éstas sean el destino de los embriones intrafolículos. Podemos pensar dos situaciones:

- 1- Los embriones intrafolículos pueden ser arrastrados en los procesos evacuatorios a las cámaras suprabranquiales y demibranquias internas asegurándose un viable desarrollo posterior.
- 2- Los embriones pueden ser "abortados" por el "progenitor" y posteriormente evacuados y/o reabsorbidos (fig. 25A-E).

Aún considerando que la autofecundación puede ser frecuente en esta especie, los embriones viables resultantes en estos procesos se deben formar y/o desarrollar en las demibranquias internas del progenitor; por lo que pensamos que los embriones intrafolículos derivan de procesos azarosos "por contacto" de los gametos en los folículos. Histológicamente se han observado ejemplares con embriones intrafolículos en estado de semidescomposición y rellenos interiormente de hemocitos (células del sistema circulatorio); lo que nos induce a pensar que estos embriones han sido abortados y quizá representen un riesgo para la supervivencia del portador (ejemplares de julio, agosto y septiembre) (fig. 25A, 25B).

Hay autores que consideran (IKEMATSU Y YAMANE, 1977 y McMAHON, 2000) que mediante procesos de autofecundación un ejemplar de *C. fluminea* aislado puede reestablecer una población, lo que nos da una idea del gran potencial dispersivo que esta especie puede llegar a tener.

## GANGLIO NEUROMA

KRAEMER (1978, 1979a, 1984, 1986) es el único autor que refiere la presencia de una estructura que denomina "ganglio folicular"; describe su anatomía y le asigna una función

de coordinación en la maduración de la línea germinal masculina así como en los procesos de autofecundación intrafolicular.

La observación de esta estructura en la población del Miño, sugiere que ésta no debe estar implicada en la espermiogénesis. Es cierto que está asociada a los folículos gonadales, pero en esta población, no es exclusiva de los masculinos o de la región masculina de los folículos hermafroditas como Kraemer describe (fig. 13). Por otro lado, si fuera determinante en la maduración del esperma así como en la autofecundación, no nos explicamos su ausencia en ejemplares con fracciones masculinas maduras y/o en aquellos que también presentan embriones intrafoliculares.

Nuestra hipótesis es que se trata de una estructura tumoral y como tal ha sido definida e inscrita en el Registro de tumores del Medical Center de Washington (Register of Tumors in Lower Animals RTLA 6428 y RTLA 6429). Con la edad, los ejemplares de *C. fluminea* se ven más afectados por este tumor, y prácticamente el 80% de los ejemplares superiores a 17 mm lo presentan. Sería muy interesante estudiar con más detalle sus consecuencias en la población, así como poder establecer una causa de su aparición, definiendo si su presencia pudiera deberse a estrés ambiental por contaminación del agua o por falta de oxigenación, por falta de espacio, etc.

## INCUBACIÓN LARVARIA

Según MACKIE (1978 y 1984), *C. fluminea* es una especie ovovivípara. Presenta, además, incubación larvaria sincrónica y endobranquial (HOEH *et al.*, 2001 y KORNIUSHIN Y GLAUBRECHT, 2003), de modo que incuba sincrónicamente los embriones y larvas de un mismo proceso evacuador en los espacios interlamelares de las demibranquias internas, liberando juveniles de charnela recta de tamaños 230-240 µm.

Existe confusión respecto a la terminología aplicada sobre la incubación de embriones y larvas. Tanto en la familia Sphaeriidae como en la familia Corbiculidae se han descrito especies “vivíparas” y “ovovivíparas”. En una revisión realizada por MACKIE (1978 y 1984), se analizaron cuatro términos diferentes de “ovoviviparismo”, basados bien en el lugar donde se produce la incubación, bien en la fuente de nutrientes del embrión. Las definiciones de viviparismo son igualmente variadas, aunque en todas ellas se establece que debe existir una conexión directa entre el embrión y el cuerpo de la “madre” y una transferencia de nutrientes por parte de la última (nutrición maternal o matrotrofía). En 1996, Glaubrecht (en KORNIUSHIN Y GLAUBRECHT, 2003) introduce el término de “eu-viviparismo”. Se considera que representa un paso intermedio entre el ovoviviparismo y el viviparismo verdadero, en el que existe un aporte de nutrientes de la madre/progenitor a los embriones incubados en las bolsas incubatorias (bien mediante fluidos o directamente a través de tejidos de la madre). Basados en este último concepto, KORNIUSHIN Y GLAUBRECHT (2003) consideran que dentro de la familia Sphaeriidae hay especies eu-vivíparas (en que se da un transporte nutritivo entre los tejidos maternos y el embrión) tales como *Sphaerium corneum* (Linnaeus, 1758), *S. rivicola* (Lamarck, 1818), *Musculium lacustre* (Müller, 1774) y *P. amnicum*.



La nutrición de los embriones incubados del género *Corbicula* es todavía discutible. Los ovocitos maduros de *Corbicula* sp. varían de 80 a 125  $\mu\text{m}$  de diámetro (son por tanto mucho mayores que los ovocitos de la familia Sphaeriidae), son ricos en vitelo y representan un almacén nutritivo para el desarrollo del embrión (KRAEMER Y GALLOWAY, 1986). En *C. fluminea* (MORTON, 1977), *C. australis* Lamarck, 1818 (BYRNE *et al.*, 2000), *C. moltkiana* Prime, 1878, *C. loebensis* Kruimel, 1913, *C. linduensis* Bollinger, 1914 y *C. matannensis* Sarasin y Sarasin, 1898 (KORNIUSHIN Y GLAUBRECHT, 2003), se ha descrito que las uniones interlamelares de las demibranquias internas están modificadas, presentando un tejido glandular que contiene células mucosas que, “presumiblemente”, sirven de fuente de nutrientes al embrión. En *C. possoensis* Sarasin y Sarasin, 1898, dichas células se encuentran en las dos demibranquias, lo que permite la incubación de las larvas en ambas (KORNIUSHIN Y GLAUBRECHT, 2003). Igualmente ITUARTE (1984 y 1994) encontró células mucosas que formaban compartimentos en las bolsas incubatorias alrededor de cada embrión en *Neocorbicula limosa*. Todas estas especies se comportarían como eu-vivíparas según el concepto de Glaubrecht (1996) (en KORNIUSHIN Y GLAUBRECHT, 2003). En nuestras observaciones no hemos observado tales modificaciones en las demibranquias internas (fig. 28A), aunque se ha observado un sustancia similar a “moco” relleno completamente el espacio interlamelar de las demibranquias internas, pero los ejemplares no estaban grávidos por lo que esta situación debe tener una causa diferente.

La incubación en el género *Corbicula* está restringida a los taxones /especies de agua dulce definidos en la literatura como *C. fluminea*, *C. leana*, *C. australis*, *C. manilensis*, *C. linduensis*, *C. possoensis*, *C. moltkiana*, *C. loebensis* y *C. matannensis* entre otras (KENNEDY Y VAN HUEKELEM, 1985; KING *et al.*, 1986; KRAEMER Y GALLOWAY, 1986; MORTON, 1986; BYRNE *et al.*, 2000 y KORNIUSHIN Y GLAUBRECHT, 2003). Por el contrario, el desarrollo planctónico con larvas nadadoras de vida libre ocurre en especies de aguas salobres como *C. fluminalis* y *C. japonica* (MORTON, 1982, 1985; RAJAGOPAL *et al.*, 2000 y BYUN Y CHUN, 2001). *Corbicula sandai* (especie endémica del Lago Biwa, Japón) representa una excepción debido a que siendo de agua dulce, no incuba y tiene larvas no nadadoras que se transforman en juveniles bénticos con tamaños de 180  $\mu\text{m}$  (HURUKAWA Y MIZUMOTO, 1953).

*Corbicula fluminea* en el río Miño presenta incubación endobranquial (HOEH *et al.*, 2001) y sincrónica (COOLEY Y Ó FOIGHIL, 2000). HOEH *et al.* (2001) clasificaron tres formas de incubación branquial según la localización de los embriones y/o larvas: a) la incubación endobranquial, los embriones se desarrollan en el interior de la dos demibranquias internas, b) la incubación ectobranquial, en las demibranquias externas y c) la incubación tetrabranquial, los embriones se desarrollan en las cuatro demibranquias. La incubación es sincrónica cuando todos los embriones y larvas incubados derivan de un mismo ciclo de evacuación gamética, y la incubación es “secuencial” cuando simultáneamente se incuban embriones de diferentes picos evacuatorios, como ocurre en *Neocorbicula limosa* (COOLEY Y Ó FOIGHIL, 2000 y ITUARTE, 1984).

Todos los ejemplares grávidos observados de *C. fluminea* del río Miño incuban en las demibranquias internas, rasgo que es extensible a esta especie en cualquier continente. KORNIUSHIN Y GLAUBRECHT (2003) encuentran diferencias en el lugar y modo de incubación

de dos especies de *Corbicula* de agua dulce de la Isla indonésica de Sulawesi. *Corbicula possoensis* (del lago Poso) presenta incubación tetrabranquial incubando también en las demibranquias externas y *C. linduensis* (del río Lindú) presenta incubación secuencial liberando juveniles de concha umbonada y de tamaños de 1,5 mm.

Nuestros resultados de gravidez y del análisis discriminante de los factores físico-químicos del agua, indican que la temperatura es el factor determinante de la aparición de las larvas en branquia siendo de 13-15°C a 22°C el intervalo donde encontramos larvas en las branquias de *C. fluminea* en el río Miño (fig. 22).

Por debajo de 13°C y hasta la temperatura mínima registrada (9,8°C) no se han observado embriones y/o larvas en branquias. De manera aislada a 12,7°C (tabla 10) se han encontrado cinco cigotos y se supone que no han desarrollado larvas debido a su ausencia durante las capturas posteriores.

Embriones y larvas en branquias se han observado desde abril hasta noviembre. Posteriormente al fin del periodo de gravidez de 1994 en noviembre (a 13°C), la primera observación de embriones intrabranquiales se da a mediados de abril de 1995, con una temperatura del agua de 15°C (tabla 10).

Es destacable que durante abril y mayo de 1995 la presencia de ejemplares grávidos es escasa (5 de 21 ejemplares). Se observaron cinco ejemplares (tres de abril y dos de mayo) y sólo se han observado incubados embriones y larvas en los primeros estadios de desarrollo (cigotos, mórulas y larvas trocóforas). A partir de junio (19,5°C) aumenta considerablemente el porcentaje de ejemplares incubantes y se observan fases avanzadas del desarrollo larvario (pedivelígeras) y larvas "D" (tabla 10).

De manera frecuente se han descrito en *C. fluminea* dos periodos de gravidez/incubación branquial al año, que normalmente coinciden con las estaciones de primavera y otoño (separadas por un periodo de verano con altas temperaturas). En Norteamérica el rango de temperatura de las épocas de incubación branquial, oscila entre 16°C y 28°C, no observándose ejemplares grávidos a temperaturas del agua por encima de 28-29°C (ALDRIDGE, 1976; ALDRIDGE Y MCMAHON, 1978; KENNEDY Y VAN HUEKELEN, 1985; MCMAHON Y WILLIAMS, 1986). Por otro lado, en Texas se describió una población que presentaba embriones y larvas (hasta larvas trocóforas) durante todo el año y sólo desarrollaban larvas "D" durante las temperaturas antes indicadas (BUSHEK Y CAMERON, 1992).

Si el freno de las fecundaciones y/o de la presencia de larvas en branquias realmente fuera la temperatura del agua, sería interesante estudiar poblaciones de esta especie en latitudes en donde no hay cambios estacionales tan fuertes (zonas próximas al ecuador), en donde, supuestamente, la población incubante podría estar presente durante todo el año y el éxito expansivo de esta especie sería aún mayor.

Otra de las características de las especies de *Corbicula* que incuban es la presencia de espermatozoides biflagelados (KRAEMER, 1983; KOMARU Y KONISHI, 1996; KONISHI *et al.*, 1998; BYRNE *et al.*, 2000 y SIRIPATRAWAN *et al.*, 2000), descritos igualmente en la población de *C. fluminea* estudiada (figs. 15F, 15G). Según KONISHI *et al.* (1998), la mayoría de los bivalvos de agua dulce presentan un tipo "primitivo de espermatozoide" con un acrosoma rudimentario o ausente, una cabeza corta, 4-5 mitocondrias y un solo flagelo. Estudios en *Corbicula*

han demostrado que las especies hermafroditas incubadoras y de agua dulce como *C. leana*, *C. fluminea* y *C. aff. fluminea* presentan un espermatozoide biflagelado (KRAEMER, 1983 y KONISHI *et al.*, 1998) frente a *C. sandai* (especie dioica y no incubadora) que tiene un espermatozoide uniflagelado (HACHIRI E HIGASHI, 1970).

Por otro lado, se demostró que los espermatozoides de *C. fluminea* y *C. leana* de Japón eran "non reductional", lo que significa que tienen el mismo contenido de ADN que las células somáticas (KOMARU *et al.*, 1997). Hay autores que consideran que estos bivalvos se reproducen por "androgénesis", proceso por el cual el núcleo del espermatozoide es retenido mientras que el núcleo del ovocito es eliminado (KOMARU *et al.*, 1997 y 1998). SIRIPATRAWAN *et al.* (2000) realizaron un estudio genético comparado entre especies de *Corbicula* procedentes de Norteamérica, este de Asia, Australia y Madagascar, sugiriendo que todas las especies de agua dulce del género *Corbicula* (excepto *C. sandai*) son androgénicas y, por tanto, clónicas. En dicho estudio no se tomaron muestras de las poblaciones europeas y PFENNINGER *et al.* (2002) consideran que la situación antes descrita no parece ajustarse a las poblaciones europeas, debido a que el morfotipo identificado como *C. fluminea* es meiótico (sufre la meiosis) y es capaz de hibridar con el morfo de agua salobre identificado como *C. fluminalis*. Sería muy interesante ampliar el estudio a poblaciones europeas para establecer si existen diferencias genéticas entre *C. fluminea* y *C. fluminalis*, conocer si tienen o no meiosis abortivas y establecer mediante qué proceso(s) reproductor(es) llegan a la clonación (si ésta se diera).

La gran diversidad de estrategias reproductoras encontrada en el género *Corbicula* (especies dioicas, hermafroditas, fecundación cruzada, autofecundación, larva libre y nadadora, fases larvarias incubadas, incubación endobranquial y tetrabranquial, liberación larvaria de juveniles de charnela recta o umbonada, etc) es superior a la de cualquier otro grupo de bivalvos de agua dulce. Se ha observado una cierta variedad de estrategias reproductoras en otros bivalvos de agua dulce tales como Unionoidea, que presentan tres tipos de larvas parásitas, incubación endobranquial o ectobranquial y diferentes tipos de marsupio (COKER *et al.*, 1921; HOEH *et al.*, 2001) y en la familia Sphaeriidae con especies típicamente ovovivíparas y especies euvivíparas (KORNIUSHIN Y GLAUBRECHT, 2003). Sin embargo, ninguna adquiere la diversidad tan elevada de la familia Corbiculidae. Se especula con la idea de que tan alta variedad reproductora está ligada al amplio espectro ecológico que la familia Corbiculidae abarca, debido a que está presente tanto en ambientes de agua dulce como salobres, desde manglares a ríos y en medios lacustres (KORNIUSHIN Y GLAUBRECHT, 2003).

## DESARROLLO LARVARIO

*Corbicula fluminea*, como la mayoría de los bivalvos de agua dulce, ha suprimido la fase larvaria nadadora y de vida libre. Este fenómeno puede estar relacionado con los ambientes que esta especie ocupa, ya que las fases larvarias recién liberadas serían arrastradas fácilmente por las rápidas corrientes del agua.

Los primeros estudios sobre las fases larvarias incubadas de *C. fluminea* (KRAEMER Y GALLOWAY, 1986; KING *et al.*, 1986) se basaron principalmente en el estudio de su morfología, considerando que las larvas "D", velígeras y pedivelígeras, difieren básicamente de la larva de vida libre marina en su mayor tamaño. Aparentemente, en la ontogenia de la familia Corbiculidae, el desarrollo individual no ha sufrido grandes modificaciones si se compara con un posible ancestro de larva planctónica (GRAF Y Ó FOIGHIL, 2000 y MEIER-BROOK, 2000) y la presencia de la larva "D" en todas las especies de agua dulce del género *Corbicula* apoya esta conclusión. Los datos ontogenéticos conducen a la hipótesis de un origen/separación tardío de las Corbículas de agua dulce, basándose en una reciente filogenia molecular (SIRIPATRAWAN *et al.*, 2000). En contraste, la ausencia o la transformación del estadio de larva "D" en Uniónidos y en Esféridos indican cambios ontogenéticos mayores y, por tanto, una historia evolutiva más larga (GRAF Y Ó FOIGHIL, 2000; MANSUR Y MEIER-BROOK, 2000, HOEH *et al.*, 2001).

En ocasiones en la literatura, se denomina metamorfosis el paso de la larva pedivelígera a juvenil en forma de "D". En el caso de esta especie no ocurre como en los bivalvos marinos, en los que hay una verdadera transformación de las larvas, con pérdidas de ciertos órganos larvarios y adquisición de elementos nuevos privativos ya de un estadio juvenil. En *C. fluminea* hemos observado que la transformación de larva pedivelígera a juvenil se traduce básicamente en la pérdida o reabsorción del velo larvario y de sus correspondientes músculos, en el inicio de la formación de la disoconcha y el inicio de la funcionalidad de la última porción del digestivo.

Durante el desarrollo embrionario, el proceso de la formación de las valvas es el mismo que en las larvas de especies marinas (CARRIKER Y PALMER, 1979), con la diferencia de que en *C. fluminea* la prodisoconcha I y II y la primera parte de la disoconcha se forman mientras las larvas están siendo incubadas en las demibranquias internas. La prodisoconcha I es secretada por la glándula de la concha y el epitelio del manto y comienza a visualizarse después del estado de trocófora, al principio del estado de velígera (figs. 24A, 24C) y según CARRIKER Y PALMER (1979). El borde del manto de la larva velígera secreta la prodisoconcha II y normalmente exhibe anillos de crecimiento concéntricos, que contrastan con la superficie más uniforme de la prodisoconcha I (CARRIKER Y PALMER, 1979). Igualmente en *C. fluminea*, la línea de demarcación que separa estas dos regiones de la concha larvaria es claramente apreciable (fig. 31A). La prodisoconcha II se comienza a secretar cuando la larva es capaz de mover, sacar y encerrar el velo dentro de la concha (Waller, 1981 en CRAGG, 1986). Posterior a la reabsorción del velo y, por tanto, a la transformación de la larva en juvenil (fases que ocurren en el interior de las demibranquias), el manto inicia la secreción de la disoconcha o concha de la forma adulta (CARRIKER Y PALMER, 1979). Este proceso tam-



bién afecta a la estructura de la concha y también en *C. fluminea* se acompaña con la formación de una línea de demarcación entre la concha larvaria (la prodisoconcha) y la del juvenil (la disoconcha) (fig. 31B).

En ocasiones, por la similitud que *C. fluminea* guarda con las larvas marinas, se ha descrito que ésta liberaba una larva velígera con un velo ciliado que actuaba de órgano nadador y tenía función alimenticia (SINCLAIR E ISOM, 1961, 1963). Sin embargo, la mayoría de los estudios describen que *C. fluminea* en todo su rango de extensión, libera juveniles en forma de "D" (o de charnela recta) (en ocasiones referidos incorrectamente como pedivelígeras), con longitudes de concha de 0,2-0,25 mm, sin velo (o con pequeños vestigios de él) y con un pie bien desarrollado (HEINSOHN, 1958; ALDRIDGE, 1976; MORTON, 1977; ALDRIDGE Y MCMAHON, 1978; ENG, 1979; MCMAHON, 1983, KENNEDY Y VAN HUEKELEM, 1985, KING *et al.*, 1986, KRAEMER Y GALLOWAY, 1986; MORTON, 1986; ARAUJO *et al.*, 1993). Asimismo este patrón se ajusta a *C. leana* (MORTON, 1986), y a *C. australis* (BYRNE *et al.*, 2000). En concordancia con estos trabajos la población estudiada igualmente libera juveniles de charnela recta de tamaños de 0,23-0,24 mm.

La única diferencia observada respecto al modelo descrito para las especies de *Corbicula* de agua dulce, se encuentra en la especie asiática *C. linduensis* (del río Lindú, isla Sulawesi) (KORNIUSHIN Y GLAUBRECHT, 2003), que presenta incubación secuencial de las larvas y libera juveniles de tamaños de 1,5 mm con concha de forma umbonada y con la charnela totalmente formada. En el citado estudio se describen otras cuatro especies asiáticas de *Corbicula* de agua dulce que liberan juveniles en forma de "D", con tamaños de concha que varían desde 0,25 mm hasta 0,40 mm. KORNIUSHIN Y GLAUBRECHT (2003) apuntan que la comparación entre especies revela una alta flexibilidad en los parámetros cuantitativos de la concha.

En ocasiones, *C. fluminea* libera fases tempranas como trocóforas y/o larvas velígeras. Esta acción responde más bien a choques osmóticos o como respuesta a situaciones estresantes (HEINSOHN, 1958; KING *et al.*, 1986, KRAEMER Y GALLOWAY, 1986). De hecho, en nuestro estudio hemos observado liberación de larvas trocóforas, velígeras y pedivelígeras, por parte de almejas grávidas transportadas (durante dos días) vivas hasta el laboratorio. Se observó que dichos individuos vaciaban por completo sus branquias, independientemente de las fases larvares incubadas. Consideramos que es una respuesta al estrés al que estaban sometidas y, en el laboratorio, se pudo observar que las fases tempranas (trocóforas, velígeras y pedivelígeras tempranas), no estaban adaptadas para la vida libre y poco adaptadas para realizar movimientos de desplazamiento. De hecho, hay autores que describen que en agua, las larvas trocóforas de *C. fluminea* realizan movimientos rotatorios y las velígeras y pedivelígeras tempranas presentan movimientos limitados de una escasa coordinación (KING *et al.*, 1986; KRAEMER Y GALLOWAY, 1986).

Si la incubación es una adaptación de la especie al medio que habitan, el velo estaría perdiendo una de sus principales funciones, que es la del movimiento. El hecho de mantener fases incubadas larvares, cosa que ya no ocurre en la familia Sphaeriidae, nuevamente nos indica en las Corbículas que incuban, una historia evolutiva más reciente.

En condiciones de laboratorio, KING *et al* (1986) establecieron la duración de las distintas fases del desarrollo larvario de *C. fluminea*. Se observaron blástulas a las 6 horas post liberación del esperma, las trocóforas se formaron a las 14 horas, las velígeras a las 40 horas, a las 100 horas las pedivelígeras y los juveniles a las 112 horas. Se observa que las pedivelígeras tardías y/o juveniles están formados y se liberan a los 4-5 días (aproximadamente) post evacuación del esperma.

El juvenil recién liberado es capaz de nadar y arrastrarse activamente por el sustrato ayudándose del pie (SINCLAIR E ISOM, 1963). Una vez liberados, los juveniles se anclan al sustrato gracias al filamento bisal adhesivo de tipo mucilaginoso que produce el pie (HEINSOHN, 1958, SINCLAIR E ISOM, 1963, KRAEMER, 1979b y KRAEMER *et al.*, 1986), o bien se mantienen en suspensión en la columna de agua o flotando en la corriente (PREZANT Y CHALERMWAT, 1984). Nosotros hemos capturado juveniles de 1-3 mm adheridos mediante el filamento bisal a un pequeño canto o grano de arena.

Dentro de la Superfamilia Corbiculoidea los únicos representantes adultos con la glándula del biso funcional, son *Corbicula* (SINCLAIR E ISOM, 1963) y *Eupera* Bourguignat, 1854 (HEARD, 1977). En la familia Sphaeriidae, la glándula se observa en las fases larvarias de *Musculium*, *Sphaerium corneum* y *S. occidentale* (J. Lewis, 1856) (MACKIE *et al.*, 1974b y HEARD, 1977), no estando presente en ningún estadio del resto de las especies de *Sphaerium* y *Pisidium* (MACKIE *et al.*, 1974b). Según MACKIE (1979) el biso larvario sirve de "anclaje" a las larvas dentro de la branquia-marsupio y en el caso de *C. fluminea*, la funcionalidad es la misma, pero el anclaje es de los juveniles al sustrato. La conservación o retraso de este órgano neoténico en los juveniles de *C. fluminea* representa otra adaptación al medio de corrientes rápidas que habita (YONGE, 1962).

En nuestro estudio hemos comprobado que, a medida que el umbo se forma, con tamaños de concha de 500-600  $\mu\text{m}$  aproximadamente, las conchas cambian de forma de D a forma oval, adquiriendo la forma umbonada que se mantiene en adultos. Esta característica coincide con lo descrito en la población de *C. fluminea* de Maryland (KENNEDY Y VAN HUEKELEM, 1985).

## DINÁMICA POBLACIONAL

Se han realizado numerosos estudios sobre la dinámica poblacional de *Corbicula fluminea*, muchas veces encaminados a establecer relaciones con su biología reproductora con el fin de poder aplacar el éxito reproductor y el problema que esta especie supone, sobre todo en Norteamérica. Los estudios sobre la dinámica poblacional son variados, en ellos se definen los reclutamientos de juveniles que ocurren al año, se estiman las cohortes que coexisten en la población, y parámetros tan variables entre diferentes poblaciones como son la longevidad, la longitud máxima teórica y la constante de crecimiento.

En nuestra población, y como se explica en el capítulo de resultados, se han observado dos reclutamientos de juveniles al año, un reclutamiento en primavera (cohorte -2) y otro en otoño (cohorte -1 y Cohorte -3). Teniendo en cuenta lo explicado anteriormente y observando la tabla de cohortes (tabla 30), se puede deducir que: la C0 se reclutó posiblemente en el muestreo que falta en el mes de mayo de 1994 (cohorte de primavera de 1994), la C1 se reclutó en otoño de 1993 (cohorte de otoño de 1993) y la C2 en primavera de 1993. Probablemente la mayoría de los ejemplares de la C3 se reclutaron en otoño de 1992 (se dice la mayoría porque probablemente esta cohorte integre también ejemplares sueltos de una cohorte "C4" reclutada en primavera de 1992).

Para llegar a tener una idea global del comportamiento reproductor de esta especie, es necesario establecer la relación entre la aparición de las cohortes y los resultados de gravidez de los individuos a lo largo del año.

Anteriormente se ha expuesto que se han observado larvas en branquia desde abril hasta noviembre. Después del invierno aparecen por primera vez ejemplares grávidos en la captura correspondiente al día 19/04/95, también hay individuos grávidos en el siguiente muestreo del día 3/05/95, mientras que en el siguiente, del día (20/05/95), no se observan larvas en los ejemplares (tabla 10). De nuevo encontramos larvas en los individuos de junio (7/06/95) y ya se observan ejemplares grávidos en todas las capturas siguientes hasta noviembre de 1995 incluido (tabla 10).

Teniendo en cuenta los dos reclutamientos observados, en primavera (con juveniles reclutados en mayo) y en otoño (con reclutas incorporados en septiembre-octubre) (fig. 39 y tabla 30), consideramos que la incubación no debe ser un proceso continuo sino que presenta dos fases: una primera que coincidiría con un pulso reproductor/incubación ocurrido en primavera (pulso de primavera) y una segunda que incluiría la incubación de los meses de verano y otoño (pulso de verano-otoño).

McMAHON (1983) considera que la causa del cese de la incubación a mediados de verano, citada para muchas poblaciones de *C. fluminea*, es la supresión de la evacuación de gametos a altas temperaturas. ENG (1979) observó igualmente en una población de *C. fluminea* de California, que la evacuación de gametos cesaba a mediados de verano y la temperatura del agua raramente excedía los 25-28°C. McMAHON (1983) considera que la evacuación bifásica de gametos (incubación en dos fases) es una característica reproductora controlada genéticamente más que inducida por las condiciones medioambientales.

**Tabla 32:** Número de ejemplares de tamaño  $\geq 13$  mm con larvas en branquia (**Gravidez Sí**) y número de ejemplares sin larvas en branquia (**Gravidez No**). Los ejemplares proceden de las capturas 18 (mayo 1995) y 19 (Abril 1995), del experimento de fecundación (**Exp. Fec.**), del estudio histológico (**Histol.**) y de disecciones (**Disecc.**).

	Gravidez Sí	Gravidez NO	Total
<b>Exp.Fec.</b>	5	11	16
<b>Histol.</b>	0	5	5
<b>Disecc.</b>	6	14	20
<b>Total</b>	11	30	41

Con los datos de gravidez del experimento de fecundación (tabla 10) podemos concretar que en el año 1995 la fase de incubación de primavera comprende el intervalo entre mediados de abril y mediados de mayo, y la fase de verano-otoño incluye desde junio hasta noviembre (ambos inclusive). Por lo que se puede deducir que los reclutas de primavera (que aparecen en mayo) que conforman la cohorte -2, corresponden al periodo de gravidez de abril y mayo de 1995 y los reclutas de otoño, que aparecen en octubre, y componen la cohorte-3, pertenecen al periodo de gravidez de junio hasta septiembre de ese mismo año (fig. 39, tablas 10 y 30).

Haciendo esta consideración extensible al año 1994, se puede deducir que la C0 reclutada en mayo de 1994 proviene del pulso reproductor de primavera de 1994 y la C-1 reclutada en septiembre de 1994 proviene del pulso de verano-otoño de ese año.

El patrón común descrito en Norteamérica expone igualmente dos reclutamientos de juveniles al año, coincidentes en las estaciones de primavera y otoño (ALDRIDGE Y McMAHON, 1978; BRITTON *et al.*, 1979; ENG, 1979; SICKEL, 1979; KRAEMER *et al.*, 1986; MATTICE Y WRIGHT, 1986; McMAHON y Williams, 1986; WILLIAMS Y McMAHON, 1986 y STITES *et al.*, 1995). En Hong Kong también se describen dos reclutamientos anuales (MORTON, 1977). Sin embargo, en Río de la Plata (Argentina), ITUARTE (1985) cita un solo reclutamiento anual (en septiembre) de *Corbicula fluminea*.

Considerando dos periodos de gravidez, podemos realizar una nueva estima del porcentaje de ejemplares grávidos en cada periodo. La gravidez se calcula en ejemplares  $\geq 13$  mm, tamaño a partir del cual la población de *C. fluminea* del río Miño presenta porcentajes representativos de gravidez (tabla 13). Se evalúa solamente el año 1995, que es de donde tenemos los datos de gravidez de los meses de abril y mayo, y se realiza una segunda tabla de gravidez (tabla 32) diferenciando por un lado ejemplares grávidos de las capturas del día 19/04/95 (captura 18) y del día 3/05/95 (captura 19) (tabla 32) y por otro lado ejemplares grávidos de las capturas desde junio hasta noviembre (capturas 21 a 30) (tabla 33). Los datos provienen de los ejemplares del experimento de fecundación (tabla 10), de disecciones y de histología (tabla 11).

Se observan diferencias porcentuales de población grávida entre los dos periodos. En el primer periodo, el 27% (11/41) de los ejemplares  $\geq 13$  mm presentan larvas en branquia, mientras que en el segundo periodo de gravidez prácticamente la mitad de la población (30/59) está grávida (fig. 41).



**Tabla 33:** Número de ejemplares de tamaño  $\geq 13$  mm con larvas en branquia (**Gravidez Sí**) y número de ejemplares sin larvas en branquia (**Gravidez No**), pertenecientes a las capturas 21 a 30 (Junio-Noviembre de 1995) procedentes del experimento de fecundación (**Exp. Fec.**) y del estudio histológico (**Histol.**).

	Gravidez Sí	Gravidez NO	Total
<b>Exp.Fec.</b>	20	23	43
<b>Histol.</b>	10	6	16
<b>Total</b>	30	29	59

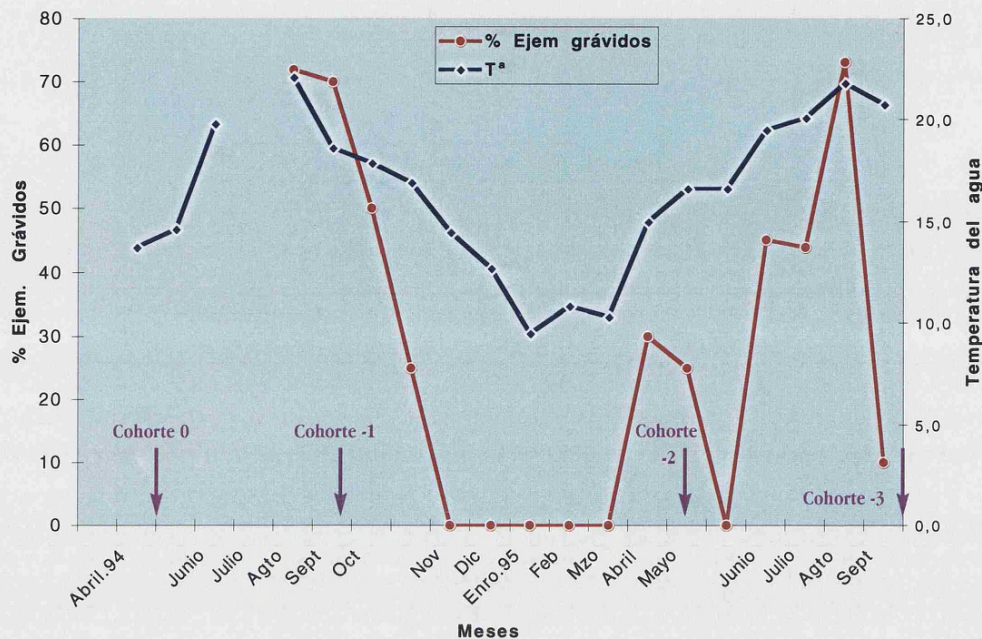
Si se observan los histogramas de crecimiento (fig. 39) vemos que, desde que se incorpora la C-2 a la población, en primavera de 1995 (procedente del pulso reproductor de abril-mayo de 1995) (fig. 41), esta cohorte es dominante y es muy representativa en la estructura poblacional, con un porcentaje de presencia en la población que varía desde el 8-15% hasta el 22%. Antes de que aparezca la siguiente cohorte, y a partir de junio, la C-2 se establece como cohorte dominante en la población. En octubre de 1995 se recluta la C-3, proveniente del pulso reproductor de verano-otoño de 1995 (fig. 41). Esta cohorte tiene una representación menor, no superando una presencia del 5% en la población, y manteniendo la dominancia la C-2.

Esta situación es paradójica. Durante el periodo de primavera, periodo reproductor más corto que el siguiente, el 27% de los ejemplares maduros están grávidos, frente al periodo de incubación de verano-otoño, que dura seis meses y se observa un 50% de individuos adultos grávidos. Analizando la estructura poblacional que muestran los histogramas de crecimiento (fig. 39), se puede deducir que, el pulso reproductor de primavera de 1995, siendo más corto temporalmente y teniendo un menor porcentaje de ejemplares grávidos, ha sido mucho más eficaz que el de verano-otoño de 1995.

Sin embargo, esta situación no se observa el año anterior. La C-1, reclutada en septiembre de 1994, tiene un papel predominante en la estructura poblacional, esta cohorte representa un 30-40% de la población durante el invierno y se mantiene en un 15% hasta la aparición de la cohorte de primavera de 1995 (la C-2). La representación de la C-1 disminuye en verano de 1995 (próxima al año de edad) cediendo su predominio a la nueva cohorte reclutada, como antes hemos mencionado.

En Norteamérica hay estudios de poblaciones de *C. fluminea* en los que se especifica la cuantía de cada pulso así como su duración temporal, siendo los pulsos de primavera más fuertes con una presencia de ejemplares grávidos en torno al 60-100% (ALDRIDGE Y McMAHON, 1978; ENG, 1979 y KENNEDY Y VAN HUEKELEM, 1985). A diferencia del estudio llevado a cabo por ALDRIDGE Y McMAHON (1978) en Texas, BRITTON *et al.* (1979) consideran que la importancia de los dos pulsos es similar, presentando cada periodo en torno a un 80% de ejemplares grávidos.

Por lo que se ha observado en el río Miño, no se puede concluir que una mayor duración de un periodo incubante, así como una mayor cuantía de población grávida durante una fase, signifique linealmente un reclutamiento superior de juveniles a la población. Por



**Fig 41:** Representación gráfica del porcentaje de ejemplares grávidos, aparición de los reclutas en la población y de la temperatura del agua durante el año 94-95.

ello debemos pensar que aunque las condiciones medioambientales hayan favorecido un determinado pulso reproductor, éstas se deben mantener, para garantizar un desarrollo viable a los juveniles. Teniendo en cuenta el delicado momento que representa la transformación de larva a juvenil, hemos de considerar que la conjunción de los factores físico-químicos del entorno, como la temperatura del agua, la disponibilidad de alimento, el pH, la concentración de oxígeno, entre otros, son muy importantes en este paso previo a la incorporación a la población.

Hay un dato que sorprende debido a que no encontramos larvas "D" en las branquias de los ejemplares de abril y de mayo de 1995. Se han realizado disecciones a ejemplares de estos meses y se encuentran en ellos embriones y larvas trocóforas (igualmente observado en la tabla 10) pero no larvas "D". Es a partir de junio de 1995 cuando observamos larvas "D" en las branquias de los individuos.

El desfase que se puede observar desde la incubación larvaria hasta la primera aparición de los reclutas en la población es explicado por PREZANT Y CHALERMWAT (1984). Los autores consideran que desde que los juveniles son liberados hasta que se incorporan a la población como juveniles de 2-3 mm aproximadamente, pueden ser transportados o quedar suspendidos en la corriente de agua gracias a unos filamentos mucosos que los mantienen flotando. En el presente trabajo, se ha observado que los ejemplares capturados menores de 2-3 mm habitualmente venían adosados por un filamento a pequeñas piedras o cantos. Estos filamentos son segregados por la glándula del biso observada en cortes histológicos en ejemplares de *C. fluminea* menores de 2-3 mm y ubicada en el pie. Por tanto, los juveniles menores de estos tamaños se pueden mantener suspendidos en la

corriente de agua, anclados a las plantas periféricas y/o a granos de arena y pequeños cantos mediante estos filamentos mucosos.

Hay datos concretos en la tabla 30 que pueden sorprender, pero que se pueden explicar sencillamente:

En la captura 16 la longitud media de la C-1 es de 5,7 mm mientras que en la captura 17 la longitud media de la cohorte es de 3,9 mm. Este descenso de la media no significa que los ejemplares han “decrecido” respecto al muestreo anterior sino que, como se puede observar en el histograma de crecimiento, ha habido un aumento de ejemplares más pequeños recolectados respecto al muestreo anterior, con lo que el estadístico desvía la media de la curva normal ajustada a la cohorte hacia la izquierda, y se obtiene un valor medio de longitud inferior. En el muestreo siguiente (captura 18) la situación se normaliza registrándose un valor medio de la C-1 de 5,6 mm.

Se observa una situación similar en la captura 25 donde la longitud media de la C-2 es de 10,5 mm. Si se observa el histograma de crecimiento del muestreo 24 no se encuentran ejemplares de 14 y 15 mm que, precisamente son ejemplares que integran la curva de esa cohorte, de modo que el programa desplaza el valor medio de la curva ajustada a la izquierda y de ahí que disminuya el valor medio de la cohorte. No obstante, en la captura 26 el valor medio de longitud aumenta a 15,1 mm, lo cual no es sorprendente porque el muestreo se realiza en agosto que representa uno de los meses de mayor crecimiento.

En algunas capturas (de la captura 4 a la 5 en la C2, de la captura 15 a la 16 para la C2) se observa un repunte en el crecimiento de las cohortes de más edad. Este aumento no es fiable para determinar el crecimiento de dichas cohortes, debido a que en estas longitudes (por encima de 22 mm aproximadamente) las cohortes de más edad se solapan mucho siendo muy difícil su separación. El solapamiento es debido a que en ocasiones hay pocos ejemplares de cada cohorte como para establecer medias diferenciadas, o bien no se tienen ejemplares de todos los tamaños, con lo que el método empleado de establecer medias que se ajustan a una curva normal no es válido en estas situaciones. En estos casos el programa ha establecido un valor medio que integra los ejemplares mayores (posiblemente de distintas cohortes). Un ejemplo de ello es el valor de la C2 a partir de la captura 5, los valores medios estimados por encima de 24 mm corresponden a ejemplares tanto de la C2 como de la C3, e incluso, los ejemplares de mayor talla pueden corresponder a una C4. Si observamos los histogramas de crecimiento, se ve que hay pocos ejemplares superiores a 20 mm y las cohortes C2 y C3 están claramente solapadas, por lo que se observa un pico de crecimiento. La misma situación se da a partir del muestreo número 26: la media de la C0 estimada pasa de 21,4 mm a 24 mm, por lo que parece claro que este último dato integra seguramente ejemplares de la C1 y no suponga crecimiento de una sola cohorte aislada.

En cuanto al crecimiento de las cohortes durante los dos años de muestreo (fig. 40 y tabla 31), se observa que el crecimiento de *Corbicula fluminea* en el río Miño es estacional, siendo mínimo en invierno y aumentando gradualmente de primavera a verano donde es máximo. A grandes rasgos, prácticamente todas las cohortes crecen en las estaciones cálidas (primavera, verano y principios de otoño), disminuyendo radicalmente el crecimiento en las

estaciones frías (finales de otoño e invierno). Este mismo patrón de crecimiento con fases de crecimiento, más rápidas en las estaciones cálidas y ralentizadas en las estaciones frías, es el que comúnmente encontramos en esta especie en el continente americano (ALDRIDGE Y McMAHON, 1978; BRITTON *et al.*, 1979; ENG, 1979; BUTTNER Y HEIDINGER, 1980; WELCH Y JOY, 1984; ITUARTE, 1985; MATTICE Y WRIGHT, 1986; McMAHON Y WILLIAMS, 1986; WILLIAMS Y McMAHON, 1986; FRENCH Y SCHLOESSER, 1991 y STITES *et al.*, 1995). Por el contrario, y también en Norteamérica, TAN TIU Y PREZANT (1992) citan un mayor crecimiento en las estaciones frías relacionado con el alto porcentaje de oxígeno disuelto del agua y consideran que el índice de crecimiento está inversamente relacionado con la temperatura del agua y con la saturación de carbonato cálcico. En nuestro estudio, el crecimiento es mayor en las estaciones cálidas y está inversamente relacionado con el oxígeno disuelto.

Analizando los parámetros físico-químicos, se puede decir que el parámetro más variable anualmente es la temperatura; el oxígeno disuelto está inversamente relacionado con ella (véanse en el Apéndice 3 las representaciones gráficas de los parámetros físico-químicos), y además nos indica que las aguas están bastante oxigenadas teniendo en cuenta que nos encontramos en el tramo bajo del río. Conviene recordar que las medidas del oxígeno disuelto de los meses de mayo y junio de 1994 se tomaron con un aparato (Horiba) distinto del utilizado el resto de los meses (Ysi 55), lo que podría explicar el pico diferencial que presenta este parámetro durante los primeros muestreos. El pH se mantiene próximo a la neutralidad, aunque hay dos capturas con valores disonantes: en abril de 1995 alcanza un valor de 4,35 y en junio de 1995 de 9,3 (en esta captura se utilizó un pHímetro diferente). Sorprenden los bajos valores de calcio (4-17 mg/l) teniendo en cuenta que alberga una comunidad de bivalvos tan vasta. Los valores de conductividad indican que el agua es estrictamente dulce, presentando valores ligeramente más elevados en las estaciones cálidas.

En el río Miño, se puede decir que lo que condiciona el crecimiento de *Corbicula fluminea* es la temperatura, de modo que el rango de crecimiento más apreciable oscila entre 15-22°C, registrándose valores de crecimiento máximos por encima de 20°C y mínimos por debajo de 15°C (entre noviembre y abril). Hay citas que apuntan a que el rango de crecimiento óptimo para *C. fluminea* se encuentra entre 20-30°C (WELCH Y JOY, 1984; JOY, 1985; MATTICE Y WRIGHT, 1986 y STITES *et al.*, 1995). En Norteamérica se han descrito poblaciones en las que el crecimiento cesa a temperaturas inferiores a 15-16°C (WELCH Y JOY, 1984; MATTICE Y WRIGHT, 1986 y STITES *et al.*, 1995), inferiores a 14°C (ENG, 1979), por debajo de 11°C (JOY, 1985; McMAHON Y WILLIAMS, 1986) o por debajo de 8,8°C (HALL, 1984). En condiciones de laboratorio se ha establecido que 2°C es el límite mínimo de temperatura, por debajo del cual resulta letal para *C. fluminea* (Mattice y Day, 1976 en RODGERS *et al.*, 1979). En la población del río Miño no se ha podido comprobar si el crecimiento ha llegado a ser nulo a las temperaturas mínimas registradas (9,5-10°C), debido a que los muestreos que marcaban estas temperaturas (diciembre de 1994 y enero de 1995) corresponden a las capturas en donde se ha tenido que extrapolar las medias de algunas cohortes porque el método no las proporcionaba. Sí se puede afirmar, que la cohorte más pequeña (la C-1) ha mantenido prácticamente fijo el valor medio de la longitud de concha a estas temperaturas mínimas, no creciendo apreciablemente. En verano es donde se registra un mayor crecimiento, siendo



máximo a temperaturas por encima de 20°C. Comparando el crecimiento de las distintas cohortes de primavera a otoño, se observa que el crecimiento de todas ellas ha sido mayor en el transcurso de la primavera al otoño de 1994, que en el siguiente año, tal como se aprecia en la tabla 31.

No obstante, hay autores que consideran que es la interacción entre factores intrínsecos (como es la reproducción) y extrínsecos (como la temperatura, la disponibilidad de alimento, la concentración de oxígeno disuelto en el agua, el pH, la concentración de calcio disuelto, entre otras) la que afecta el crecimiento (ITUARTE, 1985; MATTICE Y WRIGHT, 1986; WILLIAMS Y MCMAHON, 1986; BELANGER *et al.*, 1990 y STITES *et al.*, 1995).

En la literatura se observa que, en ocasiones, el crecimiento cesa o disminuye apreciablemente con el principio de la reproducción (MORTON, 1977a e ITUARTE, 1985), o durante el periodo de incubación (MATTICE Y WRIGHT, 1986). En nuestro caso, no se puede asegurar que existe un principio temporal de desarrollo gonadal ya que la ovogénesis es continua todo el año, y en cuanto a la espermatogénesis (sin haber un ciclo determinado), hay más ejemplares con la fracción masculina madura con el aumento de la temperatura. Precisamente cuando comienza ese aumento de temperatura, el animal crece más rápidamente y, en los meses de verano, en donde más crece, suele tener ambas líneas germinales maduras y suele haber una fracción muy importante de la población incubando (50%) (tabla 13 y fig. 41). Se puede concluir que, en el río Miño, los meses más cálidos favorecen el crecimiento, el desarrollo gonadal y la incubación en *Corbicula fluminea*.

En términos generales, y conjugando los resultados expuestos en los capítulos anteriores, los ejemplares que nacen en primavera crecen rápidamente durante el verano, de modo que algunos de ellos (el 7% aproximadamente) pueden contribuir a la reproducción del pulso de otoño, debido a que presentan longitudes medias de 11-12 mm, y como se ha expuesto anteriormente, con esos tamaños ya tienen fundamentalmente la fracción genital femenina madura y se han observado ejemplares grávidos (tabla 13). No obstante, hay que tener en cuenta que la mayoría de ejemplares grávidos presentan longitudes superiores a 13 mm, de modo que en realidad tan sólo esa fracción de los reclutas (7%) que nacen en primavera contribuirán a la reproducción del pulso de otoño del mismo año. En cambio, los reclutas de otoño no tienen madurez sexual hasta el pulso de otoño del siguiente año (con un año de vida y 18 mm aproximadamente), no pudiendo intervenir en el pulso intermedio de primavera por estar inmaduros. Los reclutas de otoño han pasado el invierno entre medias y no superan los 5-6 mm de longitud cuando llega la siguiente primavera. Los ejemplares de las cohortes de otoño llegan a su primer año de vida con 18 mm de longitud con lo que contribuyen a la reproducción del pulso de otoño y siguientes pulsos reproductores. Se han observado dos situaciones con los ejemplares reclutados en primavera: 1) la cohorte de primavera de 1994 (la C0) tiene una media de 14 mm en el pulso de primavera de 1995, pudiendo contribuir con las fracciones genitales maduras a dicho pulso, y 2) la cohorte de primavera de 1995 (la C-2), llega al otoño inmadura sexualmente debido a que talla 9 mm y mide 12 mm en la primavera de 1996, por lo que, y teniendo ya un año de vida, sólo contribuye una pequeña fracción de la cohorte al pulso reproductor de primavera.

ALDRIDGE Y MCMAHON (1978) describen para la población de *C. manilensis* en Texas, que, creciendo más rápidamente la generación nacida en primavera, ambas generaciones (de primavera y de otoño) contribuyen a la reproducción del pulso siguiente. Está descrito que los ejemplares de esta población son sexualmente maduros a partir de 10 mm, por lo que cada cohorte debe presentar como mínimo este tamaño en el siguiente pulso reproductor (ALDRIDGE Y MCMAHON, 1978).

Para la estima de la edad de *C. fluminea*, BRITTON *et al.* (1979) reevalúan los estudios realizados sobre el tema: citan estudios que estiman la edad de *Corbicula* basados en bandas en el periostraco de la concha (SINCLAIR E ISOM, 1963; GARDNER *et al.*, 1976) y en anillos de crecimiento de la misma (SICKEL, 1973), pero ninguno de ellos resulta determinante a la hora de establecer la edad con fiabilidad. Se citan los primeros trabajos que determinan la edad de *Corbicula* en base a la curva de crecimiento realizada a partir de histogramas de crecimiento. Es interesante destacar que los primeros trabajos (KEUP *et al.*, 1963; INGRAM *et al.*, 1964; GUNNING Y SUTTKUS, 1966) muestran un crecimiento casi lineal de esta especie. Se considera (BRITTON *et al.*, 1979) que si este tipo de crecimiento fuera real, sería atípico entre los moluscos, e incluso, entre la mayoría de los animales, por lo que probablemente, en estos trabajos no se ha estimado con fiabilidad el crecimiento de los juveniles. Posteriormente, realizan un estudio de ejemplares capturados en contenedores, estableciendo que, aunque el crecimiento de *Corbicula fluminea* es estacional, la curva de crecimiento es asintótica, de modo que el crecimiento es más rápido en los juveniles y se ralentiza con la edad (MORTON, 1977 y ALDRIDGE Y MCMAHON, 1978; BUTTNER Y HEIDINGER, 1980; WELCH Y JOY, 1984; ITUARTE, 1985; MATTICE Y WRIGTH, 1986; MCMAHON Y WILLIAMS, 1986 y STITES *et al.*, 1995).

Igualmente, la población estudiada de *C. fluminea* presenta un crecimiento estacional, caracterizado por aumentos lineales de crecimiento en las estaciones cálidas, y descensos apreciables del ritmo de crecimiento en las estaciones frías (fig. 40). El crecimiento de la población es posiblemente asintótico, y decimos posiblemente, porque aunque se observa un menor crecimiento de los ejemplares mayores a 21-22 mm, estos individuos son escasos y el método empleado no permite establecer valores medios de crecimiento, solapando los ejemplares mas grandes (y de diferentes cohortes) en un solo valor medio. Por ello, consideramos que para hacer una aseveración real con datos de crecimiento, es más fiable estimar un crecimiento diario de animales capturados en jaulas, con medidas de longitud de concha calculadas hasta la milésima de mm.

En distintas poblaciones de *C. fluminea*, se ha aplicado el modelo de Von Bertalanffy (MORTON, 1977; ITUARTE, 1985; STITES *et al.*, 1995) para la estima de la edad, la longitud potencial máxima ( $L_{\infty}$ ) y la constante de crecimiento (K), y se ha aplicado el modelo de Bhattacharya para establecer además las cohortes de la población (STITES *et al.*, 1995). Consideramos que en principio, el modelo de Von Bertalanffy se desarrolló para hacer estimas de edad en peces de agua dulce, muy longevos, cuyas vidas oscilaban entre 30-40 años, en los que se podía efectuar dicha estima en base a observaciones de escamas u otolitos. El caso de *C. fluminea* es diferente, su vida es comparativamente corta y presenta un crecimiento estacional no contemplado en ese modelo, por lo que no se considera que éste sea

el método más aconsejable para la estima de la edad, la  $L_{\infty}$  y la constante de crecimiento. De hecho, ITUARTE (1985) aplica el modelo independizando los crecimientos de primavera y otoño, así como sus respectivas constantes.

Dado que el tamaño muestral es de 9.705 medidas de longitud de concha, es lícito estimar la  $L_{\infty}$  (Longitud potencial máxima) de la población de *C. fluminea* del río Miño como una extrapolación del individuo más grande hallado, esto es 32 mm.

Se observa una gran plasticidad en cuanto al tamaño máximo que *C. fluminea* puede alcanzar, de modo que, se encuentran datos muy variables en los diferentes continentes. En Norteamérica hay poblaciones de Georgia que no superan los 18-20 mm, encontrándose individuos aislados de 21-26 mm (STITES *et al.*, 1995), en el Lago Arlington (Texas) esta especie llega a alcanzar los 46 mm de longitud (WILLIAMS Y MCMAHON, 1986) y 48,6 mm en Tennessee (MATTICE Y WRIGHT, 1986). En Argentina, ITUARTE (1985) presenta una  $L_{\infty}$  de 31,6 mm en Río de La Plata, años más tarde y para esa población, DARRIGRAN Y MAROÑAS (1989) citan una  $L_{\infty}$  de 42 mm en el mismo río. En Asia, MORTON (1977) cita una longitud máxima de 35 mm para una población de *C. fluminea* de Hong Kong.

Por el estudio de las cohortes, se deduce que la vida media de *C. fluminea* en el río Miño es de dos años aproximadamente. La estima de la edad de los ejemplares de este estudio, se puede deducir a partir de la tabla 30. No obstante hay que tener en cuenta que el crecimiento es estacional y un individuo de un tamaño determinado puede tener edades diferentes en función de la estación en que haya nacido. Por lo que las cohortes de primavera y de otoño tendrán constantes de crecimiento diferentes.

Gracias a la tabla de cohortes (tabla 30) se deduce que, las constantes de crecimiento de las cohortes de primavera y de otoño de la población de *C. fluminea* del río Miño, difieren a los seis meses y al año de vida de los ejemplares. Durante los primeros seis meses de vida, las cohortes nacidas en primavera (C2, C0 y C-2) crecen más rápidamente que las nacidas en otoño (C1, C-1 y C-3), que no crecen sustancialmente durante este tiempo, afectadas negativamente por la temperatura. Sin embargo, es destacable que las cohortes de otoño llegan al año de vida con un tamaño mayor que las de primavera. Por lo que, si cogiéramos ejemplares de esta población de manera aislada y quisiéramos deducir su edad en el momento de la captura, se podrían realizar varias especulaciones. Ejemplo: si capturamos un individuo de 5-6 mm y estamos en verano, podemos deducir que es del pulso de reproducción de primavera y no excede de tres meses aproximadamente, si la recogida es en primavera, procede del pulso de otoño anterior y tendrá seis meses aproximadamente. Para ejemplares de 10-11 mm, si los recogemos en otoño corresponderían a la primavera y tendrían 5-6 meses y así sucesivamente, aunque resultaría complicado establecer la edad de los ejemplares mayores de 22 mm. En resumen, para datar los ejemplares de *C. fluminea*, el método mas fiable (aunque no rápido ni sencillo) es realizar un estudio de dinámica poblacional, considerar rangos de edad que integren cohortes generacionales y conocer de esta manera la estructura poblacional.

De la misma manera que con la longitud máxima, se observa una gran variabilidad en cuanto a la vida media que las poblaciones de esta especie presentan. En Norteamérica se ha estimado que la vida media de la población de "North Central" en Texas es de un año y

medio (ALDRIDGE Y MCMAHON, 1978), de tres años a tres años y medio la del Lago Arlington también en Texas (WILLIAMS Y MCMAHON, 1986), de tres años y algunos ejemplares de cuatro años la población del río Blackwater en Georgia (STITES *et al.*, 1995), de cuatro a seis años en Tennessee (MATTICE Y WRIGHT, 1986), de cinco a siete años en Tennessee (SINCLAIR E ISOM, 1963, en ALDRIDGE Y MCMAHON, 1978). ITUARTE (1985) cita una vida media de tres años para la población del río de la Plata en Argentina y es de aproximadamente cuatro años para la población de Plover Cove en Hong Kong (MORTON, 1977).

Por todo ello el éxito de esta especie, que no tiene grandes adaptaciones fisiológicas (es poco tolerante a la hipoxia, a las temperaturas extremas y a la emersión), es la gran plasticidad reproductora, ecológica y poblacional que demuestra en las distintas poblaciones estudiadas.



# **CONCLUSIONES**



- La población de *Corbicula fluminea* del río Miño es hermafrodita simultánea.
- La gónada se compone de canales foliculares en los que no existen localizaciones topográficas definidas para cada fracción genital. Consta de folículos ovogénicos o femeninos, espermatogénicos o masculinos y hermafroditas o mixtos.
- La gónada presenta vías de evacuación comunes para ambos gametos, que evacúan a las cámaras suprabranquiales a través de los gonoporos, los cuales están bordeados exteriormente por papilas o labios.
- Se describe el ganglio neuroma como estructura tumoral que afecta a los folículos gonadales de ambos sexos. Dos preparaciones histológicas de gónada afectadas por ganglios neuroma se han incluido en el "Registry of tumors in Lower Animals" (RTLA) del Medical Center de la Universidad "George Washington" (Washington D.C).
- La gónada primaria, conformada por gonias indiferenciadas y células foliculares, se desarrolla a partir de las células germinales en individuos de longitudes comprendidas entre 1 y 3 mm.
- Ambas líneas germinales se diferencian sexualmente al mismo tiempo en individuos de longitudes a partir de 6-7 mm. De manera general, los individuos permanecen inmaduros y con ambas líneas germinales diferenciadas hasta tamaños de 9-10 mm.
- La fracción genital femenina madura cuando los ejemplares alcanzan los 11 mm. La fracción masculina madura en individuos a partir de 14-15 mm. Los ovocitos vitelogenéticos son evacuados con tamaños de 95-110  $\mu\text{m}$ . Los espermatozoides son biflagelados y presentan una cabeza filiforme de longitud entre 18.5-20  $\mu\text{m}$ .
- La gónada de *C. fluminea* no sigue un ciclo sexual anual. Se puede observar cada estado en cualquier mes y en un mes concreto ejemplares con diferentes estados gonadales. La fracción femenina produce y evacúa ovocitos todos los meses del año. Igualmente, se han observado individuos con la fracción masculina madura todos los meses del año. Los ejemplares con la fracción masculina madura son muy abundantes durante los meses de verano y octubre, descendiendo su presencia a partir de noviembre hasta registrar un mínimo porcentaje en abril y mayo.
- Se han observado fenómenos de fecundación en tres zonas diferentes del cuerpo del animal: en las demibranquias internas, en la región del gonoducto y en los folículos gonadales.
- Consideramos que la fecundación en *C. fluminea* es fruto de la combinación de procesos de fecundación cruzada y de autofecundación.
- En el río Miño, *Corbicula fluminea* tiene incubación larvaria sincrónica y endobranquial. Los embriones y larvas procedentes de un mismo proceso de liberación de gametos se

incuban sincrónicamente en los espacios interlamelares de las demibranquias internas, liberando juveniles de charnela recta de 230-240  $\mu$ m de longitud.

- La gravidez en *C. fluminea* se observa de manera más frecuente en ejemplares de tamaños superiores a 13-14 mm. El ejemplar más pequeño encontrado con larvas en branquias medía 10,7 mm. El individuo menor observado con embriones intrafolículos medía 11,6 mm.
- Salvo excepciones, los ejemplares están grávidos a partir del año de edad.
- Se diferencian dos periodos de incubación branquial. Uno que abarca desde mediados de abril hasta mediados de mayo, y un segundo desde junio hasta noviembre.
- En el río Miño, *Corbicula fluminea* se comporta como una especie iterópara con más de un periodo reproductor en su vida y con generaciones que se solapan.
- La temperatura es el factor determinante de la aparición de larvas en branquia, siendo de 13/15°C a 22°C el intervalo donde se produce el desarrollo larvario de *C. fluminea* en el río Miño.
- Se han observado dos reclutamientos de juveniles al año, uno en primavera (que deriva de la fase de incubación de abril y mayo) y otro segundo en otoño (proveniente de la fase de incubación de junio a mayo).
- El crecimiento de los ejemplares es estacional, siendo mínimo en invierno y aumentando gradualmente de primavera a verano, donde es máximo. El factor que condiciona el crecimiento de *Corbicula fluminea* en el río Miño es la temperatura del agua.
- Se han identificado un total de siete cohortes en los dos años de estudio, coexistiendo hasta cinco en determinados meses.
- En los dos años de estudio se ha observado que el crecimiento de las cohortes de otoño es ligeramente superior al crecimiento de las cohortes de primavera. Con un año de vida, las dos cohortes de otoño alcanzan longitudes medias de 18 mm aproximadamente y cada una de las cohortes de primavera mide 14,5 y 12 mm, respectivamente.
- La temperatura del agua es el factor principal que afecta a la biología reproductora de *Corbicula fluminea* en el río Miño. Los meses más cálidos favorecen el crecimiento, el desarrollo gonadal y la incubación de esta población.
- La longitud máxima de los ejemplares de *Corbicula fluminea* en el río Miño es de 32 mm y su vida media, de aproximadamente dos años.



# **BIBLIOGRAFÍA**



- ALDRIDGE, D. W. 1978. Growth, fecundity, and bioenergetics in a natural population of the Asiatic freshwater clam, *Corbicula manilensis* Philippi, from North Central Texas. *J. Moll. Stud.*, 44: 49-70.
- ALDRIDGE, D. W. y McMAHON, R. F. 1978. Growth, fecundity and bioenergetics in a natural population of the Asiatic freshwater clam, *Corbicula manilensis* Philippi, from North Central Texas. *J. Moll. Stud.*, 44: 49-70.
- ARAUJO, R. 1995. *Contribución a la taxonomía y biogeografía de la familia Sphaeriidae (Molluca: Bivalvia) en la Península Ibérica e Islas Baleares con especial referencia a la biología de Pisidium amnicum*. Ph. D. Thesis, Universidad Complutense de Madrid.
- ARAUJO, R., MORENO, D. y RAMOS, M. A. 1993. The asiatic clam *Corbicula fluminea* (Müller, 1774) (Bivalvia: Corbiculidae) in Europe. *Am. Malac. Bull.*, 10(1): 39-49.
- ARAUJO, R. y RAMOS, M. A. 1997. Evidence of intrafollicular fertilization in *Pisidium amnicum* (Müller, 1774) (Mollusca: Bivalvia) *Invert. Reprod. Dev.*, 32(3): 267-272.
- ARAUJO, R., RAMOS, M. A. y BEDOYA, J. 1994. Microtubules in the shell of the invasive bivalve *Corbicula fluminea* (Müller, 1774) (Bivalvia: Heterodonta). *J. Moll. Stud.*, 70: 405-413.
- BARRY, J. L., PAYNE, S. y WANG, S. Y. 1996. Filtration dynamics of zebra mussel, *Dreissena polymorpha*. *Can. J. Fish. Aquat.*, 53: 29-37.
- BATES, J. 1962. Extension of the range of *Corbicula fluminea* within the Ohio Drainage. *Nautilus*, 76(1): 35-36.
- BELANGER, T., ANNIS, C. y VANEPPS, D. 1990. Growth rates of the asiatic clam, *Corbicula fluminea*, in the upper and middle St. Johns river, Florida. *Nautilus*, 104(1): 4-9.
- BELANGER, S. E., FARRIS, J. L., CHERRY, D. S. y CAIRNS, J. JR. 1985. Sediment preference of the freshwater Asian clam *Corbicula fluminea*. *Nautilus*, 99(2-3): 66-73.
- BIJ DE VAATE, A. 1991. Colonization of the german part of the river Rhine by the asiatic clam, *Corbicula fluminea* Müller, 1774 (Pelecypoda, Corbiculidae). *Bull. Zool. Mus. Amsterdam*, 13(2): 13-16.
- BIJ DE VAATE, A. y GREIJ DANUS-KLAAS, M. 1990. The asiatic clam, *Corbicula fluminea* Müller, 1774 (Pelecypoda, Corbiculidae), a new immigrant in the Netherlands. *Bull. Zool. Mus. Amsterdam*, 12(12): 173-178.
- BIJ DE VAATE, A. y HULEA, O. 2000. Range extension of the Asiatic clam *Corbicula fluminea* (Müller 1774) in the River Danube: first record from Romania. *Lauterbornia*, 38: 23-26.
- BLANKEN, E. 1990. *Corbicula fluminalis* Müller, 1774 nieuw in Nederland. *Corresp. blad Ned. Malac. Ver.*, 252: 631-632.
- BOGATOV, V. V. y STAROBOGATOV. 1994. Genus *Corbicula* in the Amur river (Bivalvia, Corbiculidae). *Ruthenica*, 4(2): 147-150.
- BRITTON, J. C., COLDIRON, D. R., EVANS, L. P., GOLIGHTLY, C., O'KANE, K. D. y TENNEYCK, J. R. 1979. Reevaluation of the growth pattern in *Corbicula fluminea* (Müller). En: *Proc. First Int. Corbicula Symp.*, J. C. Britton ed. pp. 177-192. Texas Christian University, Forth Worth, TX.
- BRITTON, J. C. y MORTON, B. 1979. *Corbicula* in North America: the evidence reviewed and evaluated. En: *Proc. First Int. Corbicula Symp.*, J. C. Britton ed. pp. 21-31. Texas Christian University, Forth Worth, TX.

- BRITTON, J. C. y MORTON, B. 1982. A disecction guide, field and laboratory manual to the introduced bivalve *Corbicula fluminea*. *Malac. Rev.*, Suppl. 3: 8 pp.
- BRITTON, J. C. y MORTON, B. 1986. Polymorphism in *Corbicula fluminea* (Bivalvia: Corbiculoidea) from North America. *Malac. Rev.*, 19: 1-43.
- BRITTON, J. C. y MURPHY, C. E. 1977. New records and ecological notes for *Corbicula manilensis* in Texas. *Nautilus*, 91(1): 20-23).
- BURKY, A. 1986. Physiological ecology of freshwater bivalves. En: *The Mollusca*, 6. W. D. Russell Hunter, ed. pp. 281-315. Academic Press, New York.
- BUSHEK, D. y CAMERON, G. N. 1992. Recruitment and reproduction of the Asiatic clam in Southeastern Texas. *Texas J. Sci.*, 44(1): 123-127.
- BUTTNER, J. K. 1986. Biology of *Corbicula* in catfish rearing ponds. *Bull. Am. Malac. Union*, Special edition No. 2: 211-218.
- BUTTNER, J. K. y HEIDINGER, R. C. 1980. Seasonal variations in growth of the Asian clam, *Corbicula fluminea* (Bivalvia: Corbiculidae) in a southern Illinois Fish Pond. *Nautilus*, 94(1): 8-10.
- BYRNE, M., PHELPS, H., CHURCH, T., ADAIR, V. SELVAKUMARASWAMY, P. y POTTS, J. 2000. Reproduction and development of the freshwater clam *Corbicula australis* in southeast Australia. *Hydrobiologia*, 418: 185-197.
- BYUN, K. S. y CHUNG, E. Y. 2001. Distribution and ecology of Marsh clam in Gyeongsangbuk-do. II. Reproductive cycle and larval development of the *Corbicula japonica*. *Korean J. Malac.*, 17: 45-55.
- CARRIKER, M. R. 1990. Functional significance of the pediveliger in Bivalve development. En: *Proc. of a Memorial Symposium in Honour of Sir Charles Maurice Yonge*. Edinburgh 1986, pp. 267-282. B. Morton ed. Hong Kong University press, Hong Kong, 1990.
- CARRIKER, M. R. y PALMER, R. E. 1979. Ultrastrusctural morphogenesis of prodissoconch and early dissoconch valves of the oyster *Cassostrea virginica*. *Proc. Natl. Shellfish Assoc.*, 69: 103-128.
- CHEN, T. C., LIAO, K. Y. y WU, W. L. 1994. Reproductive ecology of *Corbicula fluminea* in Taiwan. *Bull. Malac. Chin.*, 18: 55-73.
- CHERRY, D. S., ROY, R. L., LECHLEITNER, R. A., DUNHARDT, P. A., PETERS, G. T. y CAIRNS, J. Jr. 1986. *Corbicula* fouling and control measures at the Celco plant, Virginia. *Bull. Am. Malac. Union*, Special edition No. 2: 69-81.
- CHESNEY, H. C. G. , OLIVER, P. G. y DAVIS, G. M. 1993. *Margaritifera durrovensis* Phillips, 1928: Taxonomis status, ecology and conservation. *J. Conch. Lond.*, 34: 2
- CHOUIN, S. 1997. Données nouvelles sur la distribution d'une espèce de mollusque (*Corbicula fluminea*) introduite en basse Loire (Loire-Atlantique). *Bull. Soc. Nat. Ouest France nov. ser.*, 19(1): 14-18.
- CLARKE, A. H. 1981. *Corbicula fluminea* in Lake Erie. *Nautilus*, 95: 83-84.
- CLARKE, J., CLARKE, A., WILSON, D. y FRIAUF, J. 1979. On the use of *Corbicula fluminea* as indicators of heavy metal contamination. En: *Proc. First Int. Corbicula Symp.*, J. C. Britton ed. pp. 153-163. Texas Christian University, Forth Worth, TX.
- COE, W. R. 1943a. Sexual diferentiaton in mollusks. I. Pelecypods. *Quart. Rev. Biol.*, 18: 154-164.
- COE, W. R. 1943b. Development of the primary gonads and differentiation of sexuality in *Teredo navalis* and other Pelecypod Mollusks. *Biol. Bull.*, 84: 178-186.



- COE, W. R. y TURNER, H. J. 1938. Development of the gonads and gametes in the soft-shell clam (*Mya arenaria*). *J. Morphol.*, 62(1): 91-112.
- COKER, R. E., SHIRA, A. F., CLARKE, H. W. y HOWARD, A. D. 1921. Natural history and propagation of freshwater mussels. *Bull. US Bureau Fish.*, 37: 37-181.
- COOLEY, L. R. y FOIGHIL, D. 2000. Phylogenetic analysis of the Sphaeriidae (Mollusca: Bivalvia) based on partial mitochondrial 16SrDNA gene sequences. *Inver. Biol.*, 199: 299-308.
- CORREA, N., PETRACCHI, C. y BORDINO, P. 1992. Datos preliminares sobre abundancia y estructura de tallas de *Corbicula fluminea* (Mollusca, Bivalvia) en el delta inferior del río Paraná. *Com. Soc. Malac. Urug.*, 62-63: 290-303.
- COUNTS III, C. L. 1981. *Corbicula fluminea* (Bivalvia: Sphaeriacea) in British Columbia. *Nautilus*, 95(1): 12-13.
- COUNTS III, C. L. 1986. The zoogeography and history of the invasion of the United States by *Corbicula fluminea* (Bivalvia: Corbiculidae). *Bull. Am. Malac. Union*, Special edition No. 2: 7-39.
- COUNTS III, C. L., VILLALAZ, J. R. y GÓMEZ, H. J. A. 2003. Occurrence of *Corbicula fluminea* (Bivalvia: Corbiculidae) in Panamá. *J. Freshwat. Ecol.*, 18(3): 497-498.
- CRAGG, S. M. 1996. The phylogenetic significance of some anatomical features of bivalve veliger larvae. En: *Origin and evolutionary radiation of the Mollusca*. Taylor, J. D. (Ed.). Oxford University Press. Oxford, New York & Tokyo: 371-380.
- CSANYI, B. 1999. Spreading invaders along the Danubian highway: first record of *Corbicula fluminea* (O. F. Muller, 1774) and *C. fluminalis* (O. F. Muller, 1774) in Hungary (Mollusca: Bivalvia). *Folia Hist. Nat. Mus. Matraensis*, 23: 343-345.
- DARRIGRAN, G. A. y COLAUTI, D. 1994. Potencial control biológico del molusco invasor *Corbicula fluminea* (Müller, 1774) en el río de La Plata. *Com. Soc. Malac. Urug.*, VII (64-65): 368-373.
- DARRIGRAN, G. A. y MAROÑAS, M. E. 1989. Crecimiento de las poblaciones naturales de *Corbicula fluminea* (Müller, 1774) y *C. largillierii* (philippi, 1844) (Bivalvia: Sphaeriacea) en el litoral de Punta Blanca, Estuario del Río de La Plata. *Com. Soc. Malac. Urug.*, 56-57: 139-157.
- DARRIGRAN, G. A. y PASTORINO, G. 1993. Bivalvos invasores en el río de La Plata, Argentina. *Com. Soc. Malac. Urug.*, VII(64-65): 309-313.
- DÍAZ, R. 1974. Asiatic clam, *Corbicula manilensis* (Philippi), in the Tidal James River, Virginia. *Cheasapeake Sci.*, 15: 118-120.
- DIÉGUEZ, L., HERNÁNDEZ, R., PERERA, G., VÁZQUEZ, R. y ESCALANTE, A. 1997. Presencia de estudios de *Corbicula fluminea* (Müller 1774) y estudios estacionales sobre su abundancia en el lago artificial La Jía de Camagüey, Cuba. *Malac. Rev.*, 30: 93-100.
- DOHMEN, M. R. 1983. Gametogenesis. En: *The Mollusca*, 3: *Development*, W. D. Russell Hunter, ed. pp. 1-48. Academic Press, New York.
- DRESLER, P. y CORY, R. 1980. The Asiatic clam, *Corbicula fluminea* (Müller), in the Tidal Potomac river. *Estuaries*, 2: 150-151.
- DUBOIS, C. 1995. *Biologie et demo-écologie d'une espèce invasive, Corbicula fluminea (Mollusca: Bivalvia) originaire d'Asie: étude en milieu naturel (canal lateral à la Garonne, France) et en canal experimental*. Ph. D. thesis. Université Paul Sabatier de Toulouse (Sciences).

- ENG, L. 1979. Population dynamics of the Asiatic clam, *Corbicula fluminea* (Müller), in the concrete-lined Delta Mendota Canal of Central Arizona. En: *Proc. First Int. Corbicula Symp.*, J. C. Britton ed. pp. 39-68. Texas Christian University, Fort Worth, TX.
- FOE, C. y KNIGHT, A. 1986. Method for evaluating the sublethal impact of stress employing *Corbicula fluminea*. *Bull. Am. Malac. Union*, Special edition No. 2: 133-142.
- FONTANIER, C. 1982. The distribution of *Corbicula* (Bivalvia: Corbiculidae) in the Brazos river system, Texas, 25 August- 12 November. *Texas J. Sci.*, 34(1): 5-15.
- FRENCH, J. R. P. y SCHLOESSER, D. W. 1991. Growth and overwinter survival of the asiatic clam, *Corbicula fluminea*, in the St. Clair river, Michigan. *Hidrobiologia*, 219: 165-170.
- FULLER, S. L. H. y POWELL, C. E. Jr. 1973. Range extension of *Corbicula manilensis* (Philippi) in the Atlantic drainage of the United States. *Nautilus*, 87(1): 59.
- GALE, W. 1971. An experiment to determine substrate preference of the fingernail clam, *Sphaerium transversum* (Say). *Ecology*, 52(2): 367-370.
- GALE, W. 1976. Vertical distribution and burrowing behavior of the fingernail clam, *Sphaerium transversum*. *Malacologia*, 15(2): 401-409.
- GARDNER, J. A. Jr, WOODAL, W. R., STAATS, A. A. y NAPOLI, J. F. 1976. The invasion of the Asiatic clam (*Corbicula manilensis* Philippi) in the Altamaha River, Georgia. *Nautilus*, 90(3): 117-125.
- GIRARDI, H. 1989-1990. Deux bivalves d'eau douce récents pour la faune française (Mollusca, Bivalvia). *Bull. Soc. Sci. nat. Vau.*: 87-93.
- GITTENBERGER, E. y VAN PEURSEN, A. D. P. 1992. *Corbicula*'s in Nederland. *Ned. Malac. Ver.*, 268: 1032-1033.
- GOSS, L. B. y CAIN, C. Jr. 1977. Power plant condenser and service water system fouling by *Corbicula*, the Asiatic clam. En: *Biofouling Control Procedures*. L. D. Jensen, ed. pp. 11-17. Marcel Dekker, Inc., New York.
- GRAF, D. y Ó FOIGHIL, D. 2000. The evolution of brooding characters among the freshwater pearly mussels (Bivalvia: Unioniidea) of North America. *J. Moll. Stud.*, 66: 157-170.
- GRANEY, R., CHERRY, D., RODGERS, J. y CAIRNS, J. 1980. The influence of thermal discharges and substrate composition on the population structure and distribution of the asiatic clam, *Corbicula fluminea*, in the New river, Virginia. *Nautilus*, 94(4): 130-134.
- GRUET, Y. 1992. Un nouveau mollusque bivalve pour notre région: *Corbicula* sp. (Heterodonta: Sphaeriacea). *Bull. Soc. Sc. Nat. Ouest de la France, nov. ser.*, 14(2): 37-43.
- GUNNING, G. E. y SUTTKUS, R. D. 1966. Occurrence and distribution of Asiatic clam, *Corbicula leana*, in Pearl River, Louisiana. *Nautilus*, 79(4): 113-116.
- HACHIRI, S. y HIGASHI, S. 1970. Spermiogenesis in the freshwater mussel *Corbicula sandai*. *J. Educ. Dept. Shiga Univ. Nat. Sci.*, 20: 35-39.
- HAESLOOP, U. 1992. Establishment of the Asiatic clam *Corbicula cf. fluminalis* in the Tidal Weser River (N.Germany). *Arch. Hydrobiol.*, 126(2): 175-180.
- HALL, J. J. 1984. Production of immature *Corbicula fluminea* (Bivalvia: Corbiculidae), in Lake Norman, North Carolina. *Nautilus*, 98(4): 153-159.

- HAMILL, S. E., QADRI, S. U. y MACKIE, G. L. 1979. Production and turnover ratio of *Pisidium casertanum* (Pelecypoda: Sphaeriidae) in the Ottawa river near Ottawa-Hull, Canada. *Hydrobiologia*, 62: 225-230.
- HEARD, W. H. 1964. *Corbicula fluminea* in Florida. *Nautilus*, 77: 105-107.
- HEARD, W. H. 1975. Sexuality and other aspects of reproduction in *Anodonta* (Pelecypoda: Unionidae). *Malacologia*, 15(1): 81-103.
- HEARD, W. H. 1977. Reproduction of fingernail clams (Sphaeriidae: *Sphaerium* y *Musculium*). *Malacologia*, 16: 421-451.
- HEINSOHN, G. E. 1958. *Life history and ecology of the freshwater clam, Corbicula fluminea*. Master's Thesis. University of California, Santa Barbara.
- HILL, R. W. y WYSE, G. A. 1989. *Fisiología animal* (Segunda edición). Ed. Akal.
- HILLIS, D. M. y PATTON, J. C. 1982. Morphological and electrophoretic evidence for two species of *Corbicula* (Bivalvia: Corbiculidae) in North America. *Am. Midl. Nat.*, 108: 74-80.
- HOAGLAND, K. E. 1984. Use of the terms protandry, protogyny, and hermaphroditism in malacology. *Am. Malac. Bull.*, 3(1): 85-88.
- HOEH, W. R., BOGAN, A. E. y HEARD, W. H. 2001. A phylogenetic perspective on the evolution of morphological and reproductive characteristics in the Unionida. En: *Ecology and evolution of the freshwater Mussels Unionida*, Baue, G. y Wächtler, K, ed. pp. 257-280. Springer, Berlin y Heidelberg.
- HOWLETT, D. y BAKER, R. 1999. *Corbicula fluminea* (Muller): new to U. K. *J. Conchol.*, 36(6): 83.
- HUBENOV, Z. 2001. Corbiculidae: A new family to the Bulgarian recent malacofauna (Mollusca: Bivalvia). *Acta Zool. Bulg.*, 53(3): 61-66.
- HURUKAWA, M. y MIZUMOTO, S. 1953. An ecological studies on the bivalve "Seta-shijumi", *Corbicula sandai* Reinhardt of the Lake Biwa- II. On the Development. *Bull. Japan. Soc. Sci. Fish.*, 19: 91-94.
- IKEMATSU, W. y YAMANE, S. 1977. Ecological studies of *Corbicula leana* Prime III on spawning throughout the year and self-fertilization in the gonad. *Bull. Japan. Soc. Sci. Fish.*, 43(10): 1139-1146.
- INGRAM, W. M., KEUP, L y HENDERSON, C. 1964. Asiatic clams at Parker, Arizona. *Nautilus*, 77: 121-125.
- ISAJI, S. 1995. Defensive strategies against shell dissolution in bivalves inhabiting acidic environments: The case of *Geloina* (Corbiculidae) in mangrove swamps. *Veliger*, 38(3): 235-246.
- ISOM, B. G. 1986. Historical review of asiatic clam (*Corbicula*) invasion and biofouling of waters and industries in the Americas. *Bull. Am. Malac. Union*, Special edition No. 2: 1-5.
- ISOM, B. G., BOWMAN, C. F., JOHNSON, J. T. y RODGERS, E. B. 1986. Controlling *Corbicula* (Asiatic clams) in complex Power Plant and industrial water systems. *Bull. Am. Malac. Union*, Special edition No. 2: 95-98.
- ITUARTE, C. F. 1981. Primera noticia de la introducción de pelecípodos asiáticos en el área Rioplatense (Mollusca, Corbiculidae). *Neotropica*, 27(77): 79-82.
- ITUARTE, C. F. 1984. El fenómeno de incubación branquial en *Neocorbicula limosa* (Maton, 1809) (Mollusca Pelecypoda). *Neotropica*, 30(83): 43-54.
- ITUARTE, C. F. 1985. Growth dynamics in a natural population of *Corbicula fluminea* (Bivalvia Sphaeriacea) at Punta Atalaya, Río de La Plata, Argentina. *Stud. Neotrop. Fauna Envir.*, 4: 217-225.

- ITUARTE, C. F. 1986. Contribución al conocimiento de la biología reproductiva de *Neocorbicula limosa* (Maton, 1809) (Mollusca Pelecypoda). *An. Soc. Cient. Argentina Ser. I*, 47: 1-26.
- ITUARTE, C. F. 1994. *Corbicula* and *Neocorbicula* (Bivalvia: Corbiculidae) in the Paraná, Uruguay, and Río de La Plata Basins. *Nautilus*, 107(4): 129-135.
- JONES, D. 1981. Reproductive cycles of the atlantic surf clam *Spisula solidissima*, and the ocean quahog *Arctica islandica* off New Jersey. *J. Shellfish Res.*, 1(1): 23-32.
- JOY, J. E. 1985. A 40- week study on growth of the Asian clam, *Corbicula fluminea* (Müller), in the Kanawha river, West Virginia. *Nautilus*, 99(4): 110-116.
- KENNEDY, V. y VAN HUEKELEM, L. 1985. Gametogenesis and larval production in a population of the introduced asiatic clam, *Corbicula* sp. (Bivalvia: Corbiculidae), in Maryland. *Biol. Bull.*, 168: 50-60.
- KENNEDY, V., FULLER, C. y LUTZ, R. 1991. Shell and hinge development of young *Corbicula fluminea* (Müller) (Bivalvia: Corbiculoidea). *Am. Malac. Bull.*, 8(2): 107-111.
- KEUP, L., HORNING, W. B. e INGRAM, W. M. 1963. Extension of the range of Asiatic clam to Cincinnati reach of the Ohio River. *Nautilus*, 77(1): 18-21.
- KIJVIRIYA, V., UPATHAM, E. S., VIYANANT, V. y WOODRUFF, D. S. 1991. Genetic studies of Asiatic clams, *Corbicula*, in Thailand: Allozymes of 21 nominal species are identical. *Am. Malac. Bull.*, 8(2): 97-106.
- KING, C., LANGDON, C y COUNTS III, C. 1986. Spawning and early development of *Corbicula fluminea* (Bivalvia: Corbiculidae) in laboratory culture. *Am. Malac. Bull.*, 4: 81-88.
- KINZELBACH, R. 1991. Die Körbchenmuscheln *Corbicula fluminalis*, *Corbicula fluminea* und *Corbicula fluviatilis* in Europa (Bivalvia: Corbiculidae). *Mainzer Naturw. Archiv*, 29: 215-228.
- KINZELBACH, R. 1992. The distribution of the freshwater clam *Corbicula fluminalis* in the Near East (Bivalvia: Corbiculidae). *Zool. Midd. East*, 6: 51-61.
- KOMARU, A., KAWAGISHI, T. y KONISHI, K. 1998. Cytological evidence of spontaneous androgenesis in the freshwater clam *Corbicula leana* Prime. *Dev. Genes Evol.*, 208: 46-50.
- KOMARU, A. y KONISHI, K. 1996. Ultrastructure of biflagellate spermatozoa in the freshwater clam, *Corbicula leana* (Prime). *Invert. Reprod. Dev.*, 29: 193-197.
- KOMARU, A., KONISHI, K., NAKAYAMA, I., KOBAYASHI, T., SAKAI, H. y KAWAMURA, K. 1997. Hermaphroditic freshwater clams in the genus *Corbicula* produce non-reductional spermatozoa with somatic DNA content. *Biol. Bull.*, 193: 320-323.
- KONISHI, K., KAWAMURA, K., FURUITA, H. y KOMARU, A. 1998. Spermatogenesis of the freshwater clam *Corbicula* aff. *fluminea* Müller (Bivalvia: Corbiculidae). *J. Shellfish Res.*, 17(1): 185-189.
- KORNIUSHIN, A. V. y GLAUBRECHT, M. 2003. Novel reproductive modes in freshwater clams: brooding and larval morphology in Southeast Asian taxa of *Corbicula* (Mollusca, Bivalvia, Corbiculidae). *Acta Zool. Stockh.*, 84: 293-315.
- KRAEMER, L. R. 1978. *Corbicula fluminea* (Bivalvia: Sphaeriacea): The functional morphology of its hermaphroditism. *Bull. Am. Malac. Union, Inc.*, pp. 40-49.
- KRAEMER, L. R. 1978. Discovery of two distinct kinds of statocysts in freshwaters bivalved mollusks: some behaviorial implications. *Bull. Am. Malac. Union, Inc.*, pp. 24-89.

- KRAEMER, L. R. 1979. *Corbicula* (Bivalvia: Sphaeriacea) vs Indigenous mussels (Bivalvia: Unionacea) in U. S. rivers: A hard case for interspecific competition? *Am. Zool.*, 19: 1085-1096.
- KRAEMER, L. R. 1979. Juvenile *Corbicula*: Their distribution in the Arkansas River Benthos. En: *Proc. First Int. Corbicula Symp.*, J. C. Britton ed. pp. 89-97. Texas Christian University, Fort Worth, TX.
- KRAEMER, L. R. 1983. Ontogenetic aspects of biflagellate sperm in *Corbicula fluminea* (Müller) (Bivalvia: Sphaeriacea). *Trans. Am. Microsc. Soc.*, 102: 88.
- KRAEMER, L. R. 1984. Aspects of the functional morphology of some freshwater bivalve nervous systems: effects on reproductive processes and adaptation of sensory mechanisms in the Sphaeriacea and Unionacea. *Malacologia*, 25(1): 221-239.
- KRAEMER, L. R. y GALLOWAY, M. 1986. Larval development of *Corbicula fluminea* (bivalvia: Corbiculacea): An appraisal of its heterochrony. *Am. Malac. Bull.*, 4(1): 61-79.
- KRAEMER, L. R. y LOTT, S. 1977. Microscopic anatomy of the visceral mass of *Corbicula* (Bivalvia: Sphaeriacea). *Bull. Am. Malac. Union, Inc.*, pp. 48-56.
- KRAEMER, L. R., SWANSON, C., GALLOWAY, M. y KRAEMER, R. 1986. Biological bases of behavior in *Corbicula fluminea*, II. Functional morphology of reproduction and development and review of evidence for self-fertilization. *Bull. Am. Malac. Union*, Special edition No. 2: 193-201.
- KUIPER, J. G. C. y WOLFF, W. J. 1970. The Mollusca of the estuarine region of the rivers Rhine, Meuse and Scheldt in relation to the hydrography of the area. III. The genus *Pisidium*. *Basteria*, 34(1-2): 1-42.
- LEE, T. Y. y CHUNG, E. Y. 1980. Reproductive cycle of marsh clam, *Corbicula fluminea* (v. Müller). *Publ. Inst. Mar. Sci. Nat. Fish. Univ. Busan*, 12: 47-54.
- LEMAINE-GONY, S. y BOUDOU, A. 1997. Mantle and gill fine structure in the freshwater Asiatic clam, *Corbicula fluminea* (Müller). *Annls Limnol.*, 33(3): 163-178.
- LÓPEZ, M. A. y ALTABA, C. R. 1997. Presencia de *Corbicula fluminea* (Müller, 1774) (Bivalvia: Corbiculidae) al Delta de L'Ebre. *Bull. Parc. Nat. Delta l'Ebre*, 10: 20-22.
- LUTZ, R. A. 1985. Identification of bivalve larvae and postlarvae: A review of recent advances. *Am. Malac. Bull.*, Special edition No. 1: 59-78.
- MACKIE, G. L. 1973. *Biology of Musculium securis (Pelecypoda: Sphaeriidae) in two temporary forest ponds, a river, and a permanent pond near Ottawa, Canada*. Ph. D. Thesis. University of Ottawa. Canadá.
- MACKIE, G. L., QUADRI, S. U. y CLARKE, A. H. 1974b. Byssus structure of larval forms of the fingernail clams, *Musculium securis* (Prime). *Can. J. Zool.*, 52: 945-956.
- MACKIE, G. L. 1978. Are Sphaeriid clams ovoviviparous or viviparous? *Nautilus*, 92(4): 145-146.
- MACKIE, G. L. 1979. Growth dynamics in natural populations of Sphaeriidae clams (*Spaerium*, *Musculium*, *Pisidium*). *Can. J. Zool.*, 57: 441-456.
- MACKIE, G. L. 1984. Bivalves. En: *The Mollusca. Reproduction*, 7, W. D. Russel-Hunter, ed. pp. 351-418. Academic Press, New York.
- MACPHEE, D. D. 1986. A mechanical strainer design for *Corbicula* fouling prevention in the service water system at Arkansas nuclear one, unit 2. *Am. Malac. Bull.*, Special edition No. 2: 59-61.



- MALAVASI, D., FABBRI, R. y BERNARDONI, A. 1999. First signalizing in the middle Po river of Asian clam *Corbicula fluminea* Mueller (Mollusca Bivalvia Corbiculidae). *Pianura*, 11: 183-185.
- MANSUR, M. C. D. y MEIER-BROOK, C. 2000. Morphology of *Eupera* Bourguignat 1854, and *Byssanodonta* Orbigny 1846 with contributions to the phylogenetic systematics of Sphaeriidae and Corbiculidae (Bivalvia: Veneroida). *Arch. Mollusk.*, 128: 1-59.
- MARGALEF, R. 1983. *Limnología*. Ed. Omega. Barcelona.
- MATTICE, J. S. 1983. Freshwater macrofouling and control with emphasis on *Corbicula*. *Procc. of EPRI Symposium on Condenser Macrofouling Control Technologies*, The state of the Art, Massachusetts.
- MATTICE, J. S. y WRIGHT, L. L. 1986. Aspects of growth of *Corbicula fluminea*. *Am. Malac. Bull.*, Special edition No. 2: 167-178.
- MARTÍNEZ, E. 1987. *Corbicula manilensis* molusco introducido en Venezuela. *Acta Cient. Venez.*, 38: 384-385.
- MCLEOD, M. J. 1986. Electrophoretic variation in North American *Corbicula*. *Am. Malac. Bull.*, Special edition No. 2: 125-132.
- MCLEOD, M. J. y MONTANARO, M. 1980. An electrophoretic study of *Corbicula fluminea* (Bivalvia: Corbiculacea) in the Catawba River. *Bull. Am. Malac. Union*, Special edition No. 1: 17-19.
- McMAHON, R. F. 1979. Tolerance of aerial exposure in the Asiatic freshwater clam, *Corbicula fluminea* (Müller). En: *Proc. First Int. Corbicula Symp.*, J. C. Britton ed. pp. 227-241. Texas Christian University, Forth Worth, TX.
- McMAHON, R. F. 1982. The occurrence and spread of the introduced Asiatic clam, *Corbicula fluminea* (Müller), in North America. *Nautilus*, 96(4): 134-141.
- McMAHON, R. F. 1983. Ecology of an invasive pest bivalve, *Corbicula*. En: *The Mollusca*, 6, W. D. Russel-Hunter, ed. pp. 505-561. Academic press Inc., New York.
- McMAHON, R. F. 1991. Mollusca: Bivalvia. En: *Ecology and classification of North American Freshwater Invertebrates*, Thorp, J. H. y Covich, A.P. eds., pp 315-399. Academic press, Orlando.
- McMAHON, R. F. 2000. Invasive characteristics of the freshwater bivalve *Corbicula fluminea*. En: *Nonindigenous Freshwater Organisms Vectors, Biology and Impacts*, Claudi, R. y Leach, J. H. eds., pp. 315-343. Lewis Publishers, Boca Raton.
- McMAHON, R. F. y WILLIAMS, C. J. 1986. A reassessment of growth rate, life span life cycles and population dynamics in a natural population and field caged individuals of *Corbicula fluminea* (Müller) (Bivalvia: Corbiculacea). *Am. Malac. Bull.*, Special edition No. 2: 151-166.
- McMAHON, R. F. y WILLIAMS, C. J. 1986. Growth, life cycle, upper thermal limit and downstream colonization rates in a natural population of the freshwater bivalve mollusc, *Corbicula fluminea* (Müller) receiving thermal effluents. *Am. Malac. Bull.*, Special edition No. 2: 231-239.
- MEIER-BROOK, C. 1969. Substrate relations in some *Pisidium* species (Eulamellibranchiata: Sphaeriidae). *Malacologia*, 9(1): 121-125.
- MEISTER, A. 1995. Nuebürger in Rhein und Main: Die Körbchenmuscheln *Corbicula fluminea* und *Corbicula fluminalis*. *Wasser*, 196: 32-38.
- MID-ATLANTIC SEA GRANT NETWORK. 1993-94. *Zebra mussel: A threat on the move*. University of Delaware. Sea Grant College Program.

- MILLER, A., PAYNE, B. y ALDRIDGE, D. 1986. Characterization of a bivalve community in the Tangipahoa river, Mississippi. *Nautilus*, 100(1): 18-23.
- MOOR, B. 1983. Bivalves. En: *The Mollusca. Organogenesis*, 4. W. D. Russell Hunter, ed. pp: 123-177. Academic Press, New York.
- MORTON, B. 1973. Analysis of a sample of *Corbicula manilensis* Philippi from the Perl River, China. *Malac. Rev.*, 6: 35-37.
- MORTON, B. 1977a. The population dynamics of *Corbicula fluminea* (Bivalvia: Corbiculacea) in Plover Cove Reservoir, Hong Kong. *J. Zool. Lond.*, 181: 21-42.
- MORTON, B. 1977b. The occurrence of inflammatory granulomas in the ctenidial marsupium of *Corbicula fluminea* (Mollusca: Bivalvia): A consequence of larval incubation. *J. Invert. Pathol.*, 30: 5-14.
- MORTON, B. 1979a. Freshwater fouling bivalves. En: *Proc. First Int. Corbicula Symp.*, J. C. Britton ed. 1-14 pp. Texas Christian University, Forth Worth, TX.
- MORTON, B. 1979b. *Corbicula* in Asia. En: *Proc. First Int. Corbicula Symp.*, J. C. Britton ed. 15-38 pp. Texas Christian University, Forth Worth, TX.
- MORTON, B. 1982. Some aspects of the population structure and sexual strategy of *Corbicula* cf. *fluminalis* (Bivalvia: Corbiculacea) from the Pearl River, People's Republic of China. *J. Moll. Stud.*, 48: 1-23.
- MORTON, B. 1983. The sexuality of *Corbicula fluminea* (Müller) in lentic and lotic waters in Hong Kong. *J. Moll. Stud.*, 49: 81-83.
- MORTON, B. 1985. The salinity tolerance of *Corbicula fluminea* (Bivalvia: Corbiculoidea) from Hong Kong. *Malac. Rev.*, 18: 91-95.
- MORTON, B. 1986. *Corbicula* in Asia - An updated synthesis. *Am. Malac. Bull.*, Special edition No. 2: 113-124.
- MORTON, B. 1987. Polymorphism in *Corbicula fluminea* (Bivalvia: Corbiculoidea) from Hong Kong. *Malac. Rev.*, 20: 105-127.
- MOUTHON, J. 1981. Sur la présence en France et au Portugal de *Corbicula* (Bivalvia, Corbiculidae) originaire d'Asie. *Basteria*, 45: 109-116.
- MÜLLER, O. F. 1774. *Vermium terrestrium et fluviatilium, sen animalium infosorium, helminthico-rum, et testaceorum, non marinorum, succincta historia*, 2, *Testacea*. Havnie et Lipsiae. 214 pp.
- MUSSALLI, Y. G., DIAZ-TOUS, I. A. y SICKEL, J. B. 1986. Asiatic clam control by mechanical straining and organotin toxicants. *Am. Malac. Bull.*, Special edition No. 2: 83-88.
- NAGEL, K. O. 1989. Ein weiterer Fundort von *Corbicula fluminea* (Müller, 1774) (mollusca: Bivalvia) in Portugal. *Mitt. Dtsch. Malakozool. Ges.*, 44/45: 17.
- NAGEL, K. O. 1991. On some freshwater molluscs (Gastropoda and Bivalvia) from Sierra Leone. *J. Conch.*, 34: 31-36.
- NAGEL, K. O. 1997. *Corbicula*-Notizen. *Mitt. Dtsch. Malakozool. Ges.*, 59: 11-13.
- NEI, M. 1972. Genetic distance between populations. *Am. Natur.*, 106: 283-292.
- NGUYEN, L. TH. y DE PAUW, N. 2002. The invasive species (Bivalvia, Corbiculidae) and the sediment quality in Flanders, Belgium. *Belg. J. Zool.*, 132(1): 41-48.

- OKADA, K. 1935 a. Some notes on *Musculium heterodon* (Pilsbry), a freshwater bivalve. III. Fertilization and segmentation. *Sci. Repts. Toboku Imp. Univ., Biol.*, 9: 467-483.
- OKAMOTO, A. y ARIMOTO, B. 1986. Chromosomes of *Corbicula japonica*, *C. sandai* y *C. (Corbiculina) leana* (Bivalvia, Corbiculidae). *Venus*, 45: 194-202.
- PAYNE, B., MILLER, A., HARTFIELD, P. y McMAHON, R. 1989. Variation in size demography of lotic populations of *Corbicula fluminea* (Müller). *Nautilus*, 103(2): 78-82.
- PÉREZ QUINTERO, J. C. 1990. Primeros datos sobre la presencia de *Corbicula fluminea* (Müller) (Bivalvia, Corbiculidae) en España. I. Biometría. *Scientia ger.*, 16(1): 175-182.
- PFENNINGER, M., REINHARDT, F. y STREIT, B. 2002. Evidence for cryptic hybridization between different lineages of the invasive clam genus *Corbicula* (Veneroidea, Bivalvia). *J. Evol. Biol.*, 15: 818-829.
- PIP, E. 1995. Cadmiun, lead and copper in freshwater mussels from the Assiniboine river, Manitoba, Canada. *J. Moll. Stud.*, 61: 295-302.
- PRASHAD, B. 1928a. Revision of the Asiatic species of the genus *Corbicula*. I. The Indian species of *Corbicula*. *Mem. Indian Mus.*, 9: 13-27.
- PRASHAD, B. 1928b. Revision of the Asiatic species of the genus *Corbicula*. I. The species of the genus *Corbicula*. *Mem. Indian Mus.*, 9: 29-48.
- PRASHAD, B. 1929. Revision of the Asiatic species of the genus *Corbicula*. II. The species of the genus *Corbicula* from China, south-eastern Russia, Tibet, Formosa and the Philippine Islands. *Mem. Indian Mus.*, 9: 13-27.
- PRASHAD, B. 1930. Revision of the Asiatic species of the genus *Corbicula*. III. The species of the genus *Corbicula* from the Sunda Islands, the Celebes and New Guinea. *Mem. Indian Mus.*, 9: 193-203.
- PRATT, N. 1980. Bentos de los embalses españoles. *Oecologia aquatica*, 4: 3-43.
- PREZANT, R. S. y CHALERMWAT, K. 1984. Flotation of the bivalve *Corbicula fluminea* as a means of dispersal. *Science*, 225: 1491- 1493.
- PREZANT, R. S. 1985. Molluscan mucins: A unifying thread. *Am. Malac. Bull.*, Special edition No. 1: 35-50.
- RAJAGOPAL, S., VAN DER VELDE, G. y BIJ DE VAATE, A. 2000. Reproductive biology of the Asiatic clams *Corbicula fluminalis* and *Corbicula fluminea* in the river Rhine. *Arch. Hydrobiol.*, 149(3): 403-420.
- RANDS, E. B. 1986. The molluscs of the river Great Ouse in Bedfordshire. *J. Conch.*, 32: 203-210.
- REUMER, J. 1992. *Corbicula* in Zuid-Holland. *Straatgras*, 4(1): 42-45
- RODGERS, J. H. (1977). The invasion of Asiatic clam, *Corbicula manilensis* in the New River, California. *Nautilus*, 91(2): 43-46.
- RODGERS, J. H., CHERRY, D. S., DICKSON, K. L. y CAIRNS, J. 1979. Invasion, population dynamics and elemental accumulation of *Corbicula fluminea* in the New River at Glen Lyn, Virginia. En: *Proc. First Int. Corbicula Symp.*, J. C. Britton ed. pp. 99-110. Texas Christian University, Forth Worth, TX.
- RUSSELL-HUNTER, W. 1964. Physiological aspects of ecology in non marine molluscs. En: *Physiology of Mollusca*, 1. Wilbur K. M. y Yonge C.M., ed. pp. 83-126. Academic press, New York.
- SICKEL, J. B. 1973. A new record of *Corbicula manilensis* (Philippi) in the Southern Atlantic Slope Region of Georgia. *Nautilus*, 87(1): 11-12.

- SICKEL, J. B. 1979. Population dynamics of *Corbicula* in the Altamaha River, Georgia. En: *Proc. First Int. Corbicula Symp.*, J. C. Britton ed. pp. 69-80. Texas Christian University, Fort Worth, TX.
- SICKEL, J. B. y HEYN, W. 1980. Decline of the asiatic clam, *Corbicula fluminea*, in the lower Tennessee and Cumberland rivers. *Bull. Am. Malac. Union, Inc.*: 24-26.
- SIMKISS, K. y MASON, A. Z. 1986. Metal ions: Metabolic and toxic effects. En: *The Mollusca*, 2, W. D. Russell Hunter, ed. pp. 101-110. Academic Press, New York.
- SINCLAIR, R. M. 1971. Annotated bibliography on the exotic bivalve *Corbicula* in North America, 1900-1971. *Sterkiana*, 43: 11-18.
- SINCLAIR, R. M. e ISOM, B. G. 1961. A preliminary report on the introduced Asiatic clam *Corbicula* in Tennessee. *Tennessee Stream Pollution Control Board*. pp 31. Tennessee Department of Public Health.
- SINCLAIR, R. M. e ISOM, B. G. 1963. Further studies on the introduced asiatic clam (*Corbicula*) in Tennessee. *Tennessee stream pollution control board*. pp 78. Tennessee Department of Public Health.
- SIRIPATRAWAN, S., PARK, J. K. y Ó FOIGHIL, D. 2000. Two lineages of the introduced Asian freshwater clam *Corbicula* occur in North America. *J. Moll. Stud.*, 66: 423-429.
- SMITH, M. H. 1979. Genetic variability in *Corbicula* an invading species. En: *Proc. First Int. Corbicula Symp.*, J. C. Britton ed. pp. 243-248. Texas Christian University, Fort Worth, TX.
- SMITHSON, J. A. 1986. Development of a *Corbicula* control treatment at the baldwin power station. *Am. Malac. Bull.*, Special edition No. 2: 63-67.
- STITES, D. L., BENKE, A. C. y GILLESPIE, D. M. 1995. Population dynamics, growth, and production of the Asiatic clam, *Corbicula fluminea*, in a blackwater river. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, 52: 425-437.
- TAN TIU, A. y PREZANT, R. 1989a. Temporal variation in microstructure of the inner shell surface of *Corbicula fluminea* (Bivalvia: Heterodonta). *Am. Malac. Bull.*, 7(1): 65-71.
- TAN TIU, A. y PREZANT, R. 1989b. Shell tubules in *Corbicula fluminea* (Bivalvia: Heterodonta): Functional morphology and microstructure. *Nautilus*, 103(1): 36-39.
- TAN TIU, A. y PREZANT, R. 1992. The role of environment in shell growth dynamics of the asian clam *Corbicula fluminea* (Mollusca: Bivalvia). *Malac. Rev.*, 25: 109-117.
- THOMAS, G. J. 1959. Self-fertilization and production of young in a Sphaeriid clam. *Nautilus*, 72(4): 131-140.
- TRUEMAN, E. R. 1968. The locomotion of the freshwater clam *Margaritifera margaritifera* (Unionacea: Margaritanidae). *Malacologia*, (6)3: 401-403.
- TRUEMAN, E. R. 1986. Locomotion in Molluscs. En: *The Mollusca*, 4. W. D. Russell Hunter, ed. pp. 155-194. Academic Press, New York.
- TSOI, S. C. M., LEE, S. C., WU, W. L. y MORTON, B. 1991. Genetic variation in *Corbicula fluminea* (Bivalvia: Corbiculoidea) from Hong Kong. *Malac. Rev.*, 24: 25-34.
- VAUGHT, K. C. 1989. A clasification of the living Mollusca. *Am. Malacol. Inc.* Tucker, Abbott y Boss, eds. pp. 189. Melbourne, Florida.

- VEINTENHEIMER-MENDES, I. L. 1981. *Corbicula manilensis* (Philippi, 1984) molusco asiático, na bacia do Jacuí e do Guaíba, Rio Grande do Sul, Brasil (Bivalvia, Corbiculidae). *Iberingia Ser. Zool.*, 60: 63-74
- VILLADOLID, D. V. y DEL ROSARIO, F. G. 1930. Some studies on the biology of Tulla (*Corbicula manilensis* Philippi), a common food clam of Laguna de Bay and its tributaries. *Philipp. Agric.*, 19(6): 355-382.
- WALLBRINK, H. 1992. De *Corbicula*'s van lek en waal. *Ned. Malac. Ver.*, 267: 1016-1018.
- WARD, J. L. y HODGSON, J. R. 1996. The presence of the Asiatic clam, *Corbicula sp.*, from Lake Superior. *J. Freshwat. Biol.*, 12(1): 167-169.
- WELCH, K. J. y JOY, J. E. 1984. Growth rates of the asiatic clam, *Corbicula fluminea* (Müller), in the Kanawha river, West Virginia. *Freshwat. Invert. Biol.*, 3(3): 139-142.
- WILLIAMS, C. J. y McMAHON, R. F. 1986. Power station entrainment of *Corbicula fluminea* (Müller) in relation to population dynamics, reproductive cycle and biotic and abiotic variables. *Am. Malac. Bull.*, Special edition No. 2: 99-111.
- WILLIAMS, E. H., BUNKLEY, W. L., LILYESTROM, C. G. y ORTIZ-CORPS, E. A. R. 2001. A review of recent introductions of aquatic invertebrates in Puerto Rico and implications for the management of nonindigenous species. *Caribbean J. Sci.*, 37(3-4): 246-251.
- WISENDEN, P. A. y BAILEY, R. C. 1995. Development of macroinvertebrate community structure associated with zebra mussel (*Dreissena polymorpha*) colonization of artificial substrates. *Can. J. Zool.*, 73: 1483-1443
- WEN-LUNG, W. y TRUEMAN, E. R. 1984. Observation on surface locomotion of *Sphaerium corneum* (Linnaeus) (Bivalvia: Sphaeriidae). *J. Moll. Stud.*, 50: 125-128.
- WOLFF, W. J. 1970. The Mollusca of the estuarine region of the rivers Rhine, Meuse and Scheldt in relation to the hydrography of the area. IV. The genus *Sphaerium*. *Basteria*, 34(3-4): 75-90.
- WOODS, F. H. 1932. Keimbahn determinants and continuity of the germ cells in *Sphaerium striatum* (Lam.). *J. Morphol.*, 53(2): 345-365.
- WOODRUFF, D. S., KIJVIRIYA, V. y UPATHAM, S. E. 1993. Genetic relationships among Asian *Corbicula*: Thai clams are referable to topotypic Chinese *Corbicula fluminea*. *Am. Malac. Bull.*, 10(1): 51-53.
- WU, W. L., CHEN, T. C. y LIAO, K. Y. 1994. Population genetics on *Corbicula fluminea* of Taiwan - Isozyme study. *Bull. Malac. Rep. China*, 18: 29-53.
- YONGE, C. M. 1962. On the primitive significance of the byssus in the Bivalvia and its effects in evolution. *J. Mar. Biol. Assoc. U. K.*, 42: 112-125.
- YOUNG, M. R. y WILLIAMS, J. C. 1983. Redistribution and local recolonisation by the freshwater pearl mussel *Margaritifera margaritifera* (L.). *J. Conch.*, 31: 225-234.



# **APÉNDICES**



APÉNDICE 1: Medidas de la longitud de concha (en mm) de todos los ejemplares capturados en el estudio.

Captura 1 20/4/94		Captura 3 20/6/94										
		22,95	12,65	2,67	28,62	20,75	15,79	14,81	13,82	12,97	12,10	8,74
22,23	12,35	2,42	26,65	19,86	15,71	14,75	13,81	12,93	11,93	8,74		
22,12	12,17	2,20	25,82	19,70	15,67	14,70	13,81	12,88	11,83	8,73		
21,40	12,05	2,15	25,17	19,60	15,61	14,66	13,80	12,87	11,67	8,72		
21,38	10,87	1,90	24,91	19,20	15,60	14,63	13,80	12,80	11,62	8,67		
21,11	10,72	1,80	24,80	19,14	15,51	14,59	13,72	12,77	11,45	8,66		
21,11	10,59	1,73	24,27	19,00	15,50	14,56	13,67	12,74	11,28	8,61		
20,95	9,09		24,13	18,04	15,49	14,55	13,63	12,64	11,17	8,56		
20,91	7,46		24,01	17,99	15,44	14,45	13,61	12,64	11,06	8,47		
20,26	7,12		23,38	17,84	15,43	14,43	13,57	12,62	10,76	8,24		
20,22	5,50		23,35	17,78	15,42	14,40	13,54	12,57	10,67	7,66		
19,52	5,42		23,27	17,51	15,40	14,40	13,53	12,47	10,63	5,98		
19,47	4,63		23,21	17,38	15,32	14,38	13,50	12,46	10,34	5,28		
18,53	4,25		23,15	17,20	15,27	14,38	13,49	12,44	10,31	4,60		
18,40	4,23		23,05	17,06	15,25	14,35	13,48	12,43	10,31	4,37		
17,48	4,17		23,03	16,90	15,25	14,35	13,45	12,36	10,22	4,17		
15,80	4,14		22,81	16,86	15,20	14,34	13,45	12,34	10,17	3,98		
15,70	3,86		22,73	16,76	15,17	14,32	13,45	12,27	9,92	3,93		
15,05	3,69		22,51	16,70	15,08	14,32	13,43	12,25	9,92	3,31		
14,58	3,53		22,40	16,64	15,08	14,24	13,42	12,22	9,88			
14,08	3,41		22,33	16,54	15,07	14,20	13,38	12,06	9,65			
13,89	3,40		22,26	16,40	15,05	14,17	13,37	12,04	9,55			
13,76	3,40		22,21	16,25	15,03	14,09	13,32	12,03	9,53			
13,66	3,16		21,89	16,24	15,03	14,05	13,29	12,02	9,49			
13,63	2,88		21,69	16,12	15,01	14,02	13,29	11,45	9,49			
13,61	2,82		21,48	16,08	14,95	13,97	13,23	11,40	9,40			
13,01	2,81		21,28	16,03	14,95	13,97	13,21	11,38	9,38			
12,88	2,73		21,26	16,00	14,94	13,87	13,09	11,27	9,24			
12,82	2,71		21,26	15,89	14,91	13,85	13,08	11,18	9,22			
12,81	2,56		21,24	15,84	14,84	13,83	13,06	11,07	9,21			
12,79	2,48		20,11	15,84	14,81	13,83	13,05	10,70	8,91			



Captura 5 continuación		Captura 6 21/9/94									
9,96	9,55	8,45	28,25	19,76	18,70	17,24	13,63	11,22	7,24	3,30	
9,91	9,30	8,38	28,08	19,76	18,70	17,20	13,50	11,15	6,55	3,20	
9,88	9,25	8,25	26,22	19,75	18,69	17,09	13,34	11,11	5,82	3,10	
9,83	9,12	7,92	25,66	19,74	18,66	17,04	12,97	11,05	5,10	3,10	
9,82	9,12	7,92	25,29	19,72	18,59	17,02	12,91	11,05	5,00	3,00	
9,79	9,08	7,88	24,90	19,63	18,57	16,89	12,54	10,97	4,72	3,00	
9,78	9,07	7,83	24,83	19,63	18,49	16,84	12,47	10,96	4,50	3,00	
9,70	8,98	7,68	24,31	19,59	18,47	16,78	12,45	10,95	4,50	2,90	
9,68	8,92	7,45	24,29	19,57	18,46	16,66	12,44	10,88	4,40	2,80	
9,68	8,90	7,04	23,42	19,55	18,45	16,47	12,32	10,75	4,40	2,70	
9,61	8,86	6,74	23,33	19,44	18,40	16,46	12,30	10,67	4,30	2,70	
9,60	8,85	6,73	22,74	19,42	18,37	16,36	12,11	10,67	4,30	2,70	
9,59	8,84	6,65	22,67	19,41	18,33	16,26	12,09	10,63	4,20	2,56	
9,59	8,79	6,61	22,59	19,33	18,33	16,06	12,00	10,46	4,20	2,40	
9,55	8,69	6,50	22,57	19,30	18,32	15,96	11,97	10,42	4,20	2,40	
9,52	8,59	6,47	21,59	19,29	18,30	15,95	11,96	10,32	4,20	2,40	
9,51	8,53	6,30	21,32	19,27	18,21	15,85	11,96	10,06	4,20	2,30	
9,45	8,49	6,15	21,01	19,25	18,17	15,78	11,87	9,97	4,10	2,30	
9,41	8,45	5,86	20,87	19,21	18,08	15,14	11,83	9,90	4,00	2,10	
9,39	8,39		20,80	19,15	18,04	15,03	11,80	9,84	4,00	2,00	
9,39	8,37		20,64	19,15	17,86	15,01	11,79	9,80	3,90	2,00	
9,37	8,35		20,54	19,10	17,82	14,93	11,67	9,78	3,90	1,80	
9,34	8,27		20,42	18,98	17,75	14,85	11,64	9,56	3,80	1,80	
9,23	8,13		20,16	18,97	17,67	14,72	11,56	9,55	3,70	1,60	
9,22	8,10		20,15	18,94	17,60	14,64	11,56	9,54	3,60	1,40	
9,17	8,09		20,12	18,92	17,57	14,48	11,55	9,50	3,60	1,30	
9,15	8,02		20,07	18,91	17,55	14,40	11,53	9,13	3,58		
9,10	7,74		20,04	18,90	17,52	14,25	11,34	9,04	3,50		
8,96	7,53		19,91	18,84	17,46	14,24	11,33	8,80	3,50		
8,69	7,42		19,88	18,79	17,43	13,98	11,30	8,65	3,40		
8,22	7,30		19,77	18,74	17,41	13,94	11,28	8,26	3,30		



Captura 7 4/10/94											Captura 8 23/10/94	
	28,94	15,74	13,09	8,75	4,27	3,53	2,67	2,05	1,30	0,70	11,38	5,30
	28,50	15,66	12,90	8,74	4,23	3,50	2,66	2,00	1,30	0,70	10,90	5,22
	27,73	15,55	12,56	8,70	4,20	3,49	2,60	2,00	1,30	0,65	10,41	5,18
	25,52	15,45	12,46	8,44	4,12	3,39	2,60	1,90	1,25	0,65	7,82	5,18
	25,03	15,42	12,44	8,33	4,10	3,36	2,60	1,90	1,25	0,60	6,61	5,08
	24,62	15,00	12,42	8,18	4,08	3,31	2,60	1,90	1,20	0,60	6,26	5,07
	24,29	14,95	12,34	8,10	4,03	3,25	2,60	1,70	1,20	0,55	6,02	5,00
	22,24	14,92	12,21	7,85	3,90	3,25	2,60	1,70	1,20	0,55	5,99	4,97
	20,92	14,75	12,00	6,63	3,89	3,25	2,60	1,70	1,20	0,50	5,98	4,87
	20,92	14,65	11,98	5,71	3,88	3,23	2,50	1,70	1,20	0,50	5,78	4,86
	20,89	14,65	11,65	5,70	3,84	3,22	2,50	1,70	1,20	0,45	5,78	4,86
	20,51	14,59	11,41	5,70	3,84	3,21	2,50	1,70	1,20	0,45	5,74	4,83
	20,30	14,35	11,41	5,30	3,83	3,20	2,50	1,60	1,15	0,45	5,73	4,76
	19,91	14,32	11,37	5,17	3,83	3,14	2,50	1,60	1,10	0,45	5,70	4,76
	19,90	14,25	11,20	5,00	3,83	3,12	2,50	1,60	1,10	0,40	5,64	4,74
	19,71	14,16	11,12	4,93	3,80	3,10	2,49	1,60	1,10	0,40	5,61	4,72
	19,67	14,10	10,89	4,83	3,79	3,10	2,40	1,50	1,10	0,35	5,57	4,72
	19,51	14,10	10,78	4,77	3,79	3,09	2,40	1,50	1,10	0,35	5,57	4,71
	19,09	14,05	10,68	4,72	3,79	3,07	2,40	1,50	1,10	0,35	5,55	4,71
	18,92	13,96	10,49	4,66	3,77	3,05	2,40	1,50	1,00	0,35	5,54	4,69
	18,90	13,90	10,35	4,63	3,75	3,03	2,30	1,50	1,00	0,35	5,53	4,63
	18,70	13,70	10,33	4,59	3,74	3,03	2,30	1,50	1,00	0,35	5,52	4,58
	18,66	13,65	10,02	4,58	3,74	3,00	2,20	1,50	1,00	0,35	5,50	4,57
	18,35	13,59	9,96	4,55	3,72	2,98	2,20	1,50	0,90	0,35	5,49	4,54
	18,07	13,57	9,90	4,53	3,70	2,91	2,10	1,40	0,90	0,35	5,45	4,46
	17,62	13,55	9,76	4,50	3,68	2,90	2,10	1,40	0,90	0,35	5,45	4,45
	17,30	13,44	9,65	4,45	3,68	2,87	2,10	1,40	0,85	0,35	5,44	4,42
	17,03	13,39	9,57	4,37	3,67	2,87	2,10	1,40	0,80	0,35	5,43	4,32
	17,01	13,32	9,11	4,36	3,59	2,80	2,10	1,40	0,75	0,35	5,32	4,29
	16,27	13,32	9,05	4,34	3,59	2,80	2,10	1,40	0,75	0,35	5,31	4,29
	15,86	13,23	9,01	4,32	3,56	2,79	2,05	1,30	0,75	0,35	5,30	4,26

**Captura 8**  
continuación

4,21	3,43	2,78	2,20	2,00	1,80	1,70	1,55	1,40	1,25	1,15	1,00	0,40
4,20	3,43	2,77	2,20	2,00	1,80	1,70	1,55	1,40	1,25	1,10	0,95	0,35
4,14	3,42	2,76	2,20	2,00	1,80	1,70	1,50	1,40	1,20	1,10	0,95	0,30
4,11	3,41	2,75	2,20	2,00	1,80	1,65	1,50	1,40	1,20	1,10	0,95	0,30
4,11	3,41	2,70	2,20	1,95	1,80	1,65	1,50	1,40	1,20	1,10	0,95	0,25
4,09	3,39	2,70	2,15	1,95	1,80	1,65	1,50	1,40	1,20	1,10	0,90	0,08
4,09	3,38	2,65	2,15	1,95	1,80	1,65	1,50	1,40	1,20	1,10	0,90	
4,06	3,38	2,60	2,10	1,95	1,80	1,65	1,50	1,35	1,20	1,10	0,90	
4,06	3,32	2,60	2,10	1,90	1,80	1,65	1,50	1,30	1,20	1,10	0,90	
4,01	3,31	2,60	2,10	1,90	1,80	1,65	1,50	1,30	1,20	1,10	0,90	
3,99	3,31	2,60	2,10	1,90	1,80	1,60	1,50	1,30	1,20	1,10	0,90	
3,94	3,29	2,60	2,10	1,90	1,75	1,60	1,50	1,30	1,20	1,10	0,90	
3,93	3,29	2,55	2,10	1,90	1,75	1,60	1,50	1,30	1,20	1,10	0,90	
3,92	3,24	2,50	2,10	1,90	1,75	1,60	1,50	1,30	1,20	1,10	0,90	
3,88	3,23	2,50	2,10	1,90	1,70	1,60	1,50	1,30	1,20	1,10	0,90	
3,79	3,20	2,50	2,10	1,90	1,70	1,60	1,45	1,30	1,20	1,10	0,90	
3,77	3,16	2,50	2,10	1,90	1,70	1,60	1,45	1,30	1,20	1,10	0,85	
3,76	3,12	2,40	2,10	1,90	1,70	1,60	1,45	1,30	1,20	1,10	0,85	
3,72	3,10	2,40	2,10	1,90	1,70	1,60	1,45	1,30	1,20	1,10	0,85	
3,70	3,10	2,40	2,05	1,90	1,70	1,60	1,45	1,30	1,20	1,05	0,85	
3,67	3,10	2,40	2,05	1,90	1,70	1,60	1,45	1,30	1,15	1,05	0,80	
3,62	3,05	2,40	2,05	1,90	1,70	1,60	1,45	1,30	1,15	1,05	0,75	
3,60	2,99	2,40	2,05	1,90	1,70	1,60	1,40	1,30	1,15	1,05	0,75	
3,58	2,95	2,40	2,05	1,85	1,70	1,60	1,40	1,30	1,15	1,05	0,70	
3,57	2,85	2,40	2,00	1,85	1,70	1,60	1,40	1,30	1,15	1,05	0,70	
3,56	2,83	2,30	2,00	1,85	1,70	1,55	1,40	1,30	1,15	1,05	0,55	
3,51	2,80	2,30	2,00	1,85	1,70	1,55	1,40	1,30	1,15	1,05	0,55	
3,50	2,80	2,30	2,00	1,85	1,70	1,55	1,40	1,30	1,15	1,00	0,50	
3,48	2,80	2,30	2,00	1,80	1,70	1,55	1,40	1,30	1,15	1,00	0,50	
3,48	2,80	2,30	2,00	1,80	1,70	1,55	1,40	1,30	1,15	1,00	0,45	
3,47	2,80	2,20	2,00	1,80	1,70	1,55	1,40	1,25	1,15	1,00	0,45	

Captura 9 7/11/94
----------------------

29,27	19,83	6,92	5,96	5,32	4,77	4,26	3,68	3,04	2,10	1,80	1,60	1,50	1,35
28,94	19,82	6,91	5,95	5,32	4,77	4,24	3,67	3,03	2,10	1,75	1,60	1,50	1,35
26,84	19,60	6,84	5,94	5,30	4,76	4,24	3,64	3,00	2,10	1,75	1,60	1,50	1,35
24,42	19,50	6,71	5,94	5,30	4,76	4,24	3,62	2,94	2,05	1,75	1,60	1,50	1,35
24,37	19,33	6,63	5,93	5,27	4,75	4,23	3,62	2,90	2,00	1,75	1,60	1,45	1,35
23,04	19,08	6,56	5,92	5,25	4,74	4,23	3,61	2,81	2,00	1,70	1,60	1,45	1,35
23,03	18,77	6,54	5,92	5,21	4,71	4,22	3,58	2,80	2,00	1,70	1,60	1,45	1,35
22,85	18,62	6,51	5,90	5,21	4,71	4,11	3,56	2,80	2,00	1,70	1,60	1,45	1,30
22,17	18,33	6,46	5,89	5,21	4,70	4,10	3,54	2,80	2,00	1,70	1,60	1,45	1,30
22,10	18,24	6,45	5,88	5,16	4,68	4,07	3,53	2,75	1,95	1,70	1,60	1,45	1,30
21,82	17,69	6,45	5,83	5,15	4,65	4,00	3,52	2,70	1,95	1,70	1,55	1,45	1,30
21,81	16,60	6,43	5,83	5,14	4,62	4,00	3,50	2,67	1,90	1,70	1,55	1,40	1,30
21,73	16,57	6,43	5,77	5,13	4,61	3,99	3,49	2,65	1,90	1,70	1,55	1,40	1,30
21,66	16,18	6,35	5,76	5,13	4,60	3,98	3,47	2,60	1,90	1,70	1,55	1,40	1,30
21,44	15,94	6,31	5,73	5,10	4,57	3,98	3,45	2,40	1,90	1,70	1,55	1,40	1,30
21,24	15,84	6,31	5,72	5,10	4,56	3,98	3,45	2,40	1,90	1,70	1,55	1,40	1,30
21,22	15,26	6,28	5,71	5,08	4,54	3,96	3,38	2,40	1,90	1,70	1,55	1,40	1,30
21,22	15,15	6,28	5,70	5,06	4,54	3,93	3,37	2,40	1,85	1,65	1,55	1,40	1,30
21,21	14,67	6,27	5,64	5,00	4,54	3,90	3,36	2,30	1,85	1,65	1,55	1,40	1,30
21,16	14,50	6,25	5,64	5,00	4,50	3,90	3,32	2,30	1,85	1,65	1,55	1,40	1,30
21,07	13,80	6,18	5,61	4,97	4,47	3,90	3,31	2,30	1,85	1,65	1,55	1,40	1,30
20,98	13,79	6,16	5,58	4,91	4,45	3,87	3,30	2,30	1,80	1,65	1,50	1,40	1,25
20,79	11,83	6,16	5,57	4,90	4,41	3,82	3,28	2,30	1,80	1,65	1,50	1,40	1,25
20,75	10,90	6,10	5,56	4,90	4,38	3,80	3,28	2,20	1,80	1,60	1,50	1,40	1,25
20,61	8,66	6,09	5,56	4,88	4,34	3,79	3,27	2,20	1,80	1,60	1,50	1,40	1,25
20,42	7,40	6,06	5,53	4,87	4,33	3,79	3,24	2,20	1,80	1,60	1,50	1,40	1,25
20,37	7,10	6,03	5,48	4,85	4,32	3,79	3,23	2,20	1,80	1,60	1,50	1,40	1,25
20,34	7,07	6,01	5,45	4,84	4,31	3,78	3,17	2,10	1,80	1,60	1,50	1,35	1,25
20,24	7,07	6,01	5,40	4,83	4,30	3,73	3,10	2,10	1,80	1,60	1,50	1,35	1,25
20,09	7,04	6,00	5,39	4,80	4,30	3,70	3,10	2,10	1,80	1,60	1,50	1,35	1,25
19,86	6,94	6,00	5,36	4,80	4,28	3,68	3,10	2,10	1,80	1,60	1,50	1,35	1,25

Captura 9		Captura 10											
Continuación		22/11/94											
1,25	1,15	1,05	23,55	5,90	5,06	4,40	3,80	3,40	2,80	2,30	2,00		
1,25	1,15	1,05	23,34	5,86	5,04	4,40	3,80	3,37	2,80	2,30	2,00		
1,25	1,15	1,05	22,79	5,81	5,01	4,38	3,80	3,36	2,80	2,30	2,00		
1,25	1,15	1,05	22,15	5,80	5,00	4,35	3,78	3,35	2,80	2,30	2,00		
1,25	1,15	1,00	21,95	5,80	5,00	4,30	3,70	3,35	2,80	2,30	1,90		
1,20	1,15	1,00	21,25	5,70	4,99	4,30	3,70	3,31	2,80	2,30	1,90		
1,20	1,15	1,00	20,84	5,69	4,84	4,25	3,70	3,30	2,79	2,30	1,90		
1,20	1,15	1,00	20,52	5,65	4,84	4,21	3,67	3,30	2,70	2,20	1,90		
1,20	1,15	1,00	18,41	5,60	4,80	4,20	3,67	3,30	2,70	2,20	1,90		
1,20	1,15	1,00	16,37	5,60	4,80	4,11	3,66	3,30	2,70	2,20	1,90		
1,20	1,15	1,00	13,97	5,57	4,70	4,10	3,62	3,30	2,70	2,20	1,90		
1,20	1,15	1,00	13,20	5,54	4,70	4,10	3,62	3,30	2,70	2,20	1,90		
1,20	1,10	1,00	13,08	5,40	4,70	4,10	3,62	3,30	2,70	2,20	1,90		
1,20	1,10	0,95	10,25	5,37	4,70	4,10	3,60	3,27	2,70	2,20	1,90		
1,20	1,10	0,95	9,76	5,36	4,69	4,08	3,60	3,24	2,70	2,20	1,90		
1,20	1,10	0,95	9,11	5,35	4,67	4,07	3,60	3,23	2,65	2,10	1,90		
1,20	1,10	0,95	8,26	5,35	4,64	4,05	3,60	3,21	2,60	2,10	1,80		
1,20	1,10	0,95	7,82	5,32	4,60	4,03	3,60	3,20	2,60	2,10	1,80		
1,20	1,10	0,95	7,16	5,31	4,60	4,00	3,59	3,20	2,60	2,10	1,80		
1,20	1,10	0,90	7,00	5,25	4,59	4,00	3,56	3,20	2,60	2,10	1,80		
1,20	1,10	0,90	6,88	5,24	4,54	4,00	3,50	3,20	2,60	2,10	1,80		
1,20	1,05	0,90	6,73	5,23	4,52	4,00	3,50	3,10	2,50	2,05	1,80		
1,20	1,05	0,90	6,49	5,21	4,50	3,93	3,50	3,10	2,50	2,00	1,80		
1,20	1,05	0,90	6,38	5,20	4,50	3,93	3,45	3,08	2,50	2,00	1,80		
1,20	1,05	0,85	6,31	5,20	4,48	3,90	3,44	3,00	2,50	2,00	1,80		
1,20	1,05	0,85	6,19	5,20	4,45	3,81	3,44	3,00	2,40	2,00	1,80		
1,20	1,05	0,85	6,17	5,19	4,42	3,80	3,43	2,97	2,40	2,00	1,80		
1,20	1,05	0,75	6,15	5,10	4,40	3,80	3,42	2,90	2,40	2,00	1,80		
1,15	1,05	0,70	6,01	5,09	4,40	3,80	3,40	2,90	2,40	2,00	1,75		
1,15	1,05	0,45	6,00	5,09	4,40	3,80	3,40	2,90	2,40	2,00	1,75		
1,15	1,05	0,45	5,98	5,09	4,40	3,80	3,40	2,90	2,40	2,00	1,70		

Captura 10		Captura 11										
Continuación		13/12/94										
1,70	1,50	1,40	1,30	1,20	0,90	29,89	21,31	19,05	7,96	5,21	3,16	
1,70	1,50	1,40	1,30	1,20	0,90	29,07	21,27	18,87	7,05	5,20	3,15	
1,70	1,50	1,40	1,30	1,10	0,80	28,67	21,24	18,65	7,04	5,14	3,10	
1,70	1,50	1,40	1,30	1,10	0,80	27,86	21,15	18,64	6,99	5,07	3,10	
1,70	1,50	1,40	1,20	1,10	0,80	27,82	21,14	18,62	6,88	5,02	3,05	
1,70	1,50	1,40	1,20	1,10	0,80	27,65	21,00	17,97	6,77	4,97	3,00	
1,70	1,50	1,40	1,20	1,10	0,70	27,29	20,91	17,33	6,72	4,96	3,00	
1,70	1,50	1,40	1,20	1,10	0,70	27,16	20,85	16,78	6,43	4,89	2,90	
1,70	1,50	1,40	1,20	1,10	0,70	25,44	20,79	15,86	6,42	4,71	2,80	
1,70	1,50	1,40	1,20	1,10	0,70	25,31	20,76	15,86	6,37	4,70	2,70	
1,70	1,50	1,40	1,20	1,10	0,70	24,62	20,71	15,80	6,32	4,65	2,65	
1,70	1,50	1,40	1,20	1,10	0,70	23,62	20,64	15,51	6,17	4,65	2,65	
1,70	1,50	1,35	1,20	1,10	0,60	22,78	20,61	15,48	6,16	4,57	2,65	
1,60	1,50	1,30	1,20	1,10	0,60	22,69	20,50	15,30	6,14	4,55	2,50	
1,60	1,50	1,30	1,20	1,10	0,60	22,60	20,43	15,10	6,13	4,53	2,50	
1,60	1,50	1,30	1,20	1,10	0,60	22,45	20,41	15,04	6,04	4,45	2,35	
1,60	1,50	1,30	1,20	1,10	0,60	22,44	20,41	14,72	5,96	4,43	2,30	
1,60	1,50	1,30	1,20	1,10	0,60	22,32	20,40	14,71	5,92	4,22	2,30	
1,60	1,50	1,30	1,20	1,10	0,60	22,20	20,35	14,70	5,75	4,14	2,30	
1,60	1,40	1,30	1,20	1,00	0,60	22,08	20,30	14,45	5,71	4,00	2,25	
1,60	1,40	1,30	1,20	1,00	0,60	22,06	20,25	14,20	5,71	3,96	2,20	
1,60	1,40	1,30	1,20	1,00	0,60	22,05	20,22	13,98	5,70	3,95	2,20	
1,60	1,40	1,30	1,20	1,00	0,60	22,05	20,05	13,96	5,67	3,84	2,15	
1,60	1,40	1,30	1,20	1,00	0,60	22,03	19,97	13,73	5,67	3,69	2,10	
1,60	1,40	1,30	1,20	1,00	0,60	21,94	19,92	13,68	5,59	3,67	2,10	
1,60	1,40	1,30	1,20	1,00	0,60	21,84	19,86	13,41	5,51	3,66	2,10	
1,60	1,40	1,30	1,20	1,00	0,60	21,80	19,78	13,39	5,42	3,64	2,00	
1,60	1,40	1,30	1,20	1,00	0,60	21,62	19,69	12,79	5,40	3,48	2,00	
1,50	1,40	1,30	1,20	1,00	0,60	21,62	19,47	12,25	5,34	3,39	2,00	
1,50	1,40	1,30	1,20	0,90	0,60	21,42	19,33	11,62	5,25	3,27	1,95	
1,50	1,40	1,30	1,20	0,90	0,60	21,38	19,32	8,56	5,25	3,26	1,90	



Captura 11 Continuación	Captura 12 27/12/94									
	1,90	1,50	1,20	0,85	29,23	7,36	5,22	4,09	3,44	2,76
	1,85	1,50	1,20	0,85	28,46	7,10	5,13	4,02	3,44	2,75
	1,80	1,50	1,20	0,85	28,11	7,04	4,97	3,99	3,43	2,75
	1,75	1,50	1,20	0,75	28,06	7,00	4,94	3,98	3,41	2,72
	1,75	1,50	1,15	0,50	27,22	6,94	4,94	3,95	3,41	2,71
	1,75	1,45	1,15		25,90	6,83	4,93	3,91	3,33	2,71
	1,75	1,45	1,15		25,32	6,65	4,92	3,89	3,33	2,70
	1,75	1,40	1,15		25,27	6,60	4,90	3,88	3,32	2,70
	1,75	1,40	1,15		24,12	6,37	4,90	3,88	3,30	2,69
	1,70	1,40	1,15		23,73	6,24	4,83	3,86	3,29	2,69
	1,70	1,35	1,15		22,58	6,22	4,77	3,83	3,27	2,65
	1,70	1,35	1,10		22,48	6,17	4,74	3,83	3,26	2,64
	1,70	1,35	1,10		22,47	6,08	4,70	3,82	3,21	2,64
	1,70	1,35	1,10		21,83	5,76	4,70	3,82	3,20	2,62
	1,65	1,35	1,10		21,38	5,75	4,66	3,79	3,19	2,60
	1,65	1,30	1,10		21,30	5,74	4,63	3,78	3,19	2,60
	1,60	1,30	1,10		21,04	5,69	4,59	3,77	3,18	2,60
	1,60	1,30	1,10		20,90	5,66	4,56	3,74	3,18	2,57
	1,60	1,30	1,10		20,72	5,65	4,51	3,68	3,16	2,55
	1,60	1,30	1,10		20,55	5,65	4,50	3,67	3,14	2,55
	1,60	1,25	1,10		20,54	5,51	4,43	3,67	3,13	2,51
	1,60	1,25	1,05		20,53	5,48	4,39	3,60	3,06	2,51
	1,55	1,25	1,05		20,46	5,48	4,35	3,59	3,04	2,51
	1,55	1,20	1,05		19,23	5,46	4,33	3,54	3,04	2,50
	1,55	1,20	1,00		19,01	5,45	4,32	3,54	3,02	2,50
	1,55	1,20	1,00		15,04	5,43	4,32	3,54	3,01	2,50
	1,55	1,20	1,00		14,86	5,39	4,26	3,52	2,94	2,50
	1,55	1,20	0,95		13,86	5,33	4,24	3,51	2,81	2,50
	1,55	1,20	0,95		13,74	5,28	4,18	3,47	2,80	2,50
	1,55	1,20	0,90		13,17	5,27	4,17	3,46	2,80	2,50
	1,50	1,20	0,85		8,17	5,26	4,16	3,45	2,78	2,49

Captura 12		Captura 13										
Continuación		24/1/95										
1,80	1,60	1,50	1,30	1,20	1,05	0,85	15,34	4,29	3,44	2,99	2,45	
1,80	1,60	1,50	1,30	1,15	1,05	0,80	14,02	4,28	3,43	2,98	2,45	
1,80	1,60	1,45	1,30	1,15	1,05	0,80	11,95	4,23	3,42	2,97	2,40	
1,80	1,60	1,45	1,30	1,15	1,00	0,75	8,20	4,19	3,39	2,97	2,40	
1,80	1,60	1,45	1,30	1,15	1,00	0,65	7,20	4,18	3,37	2,94	2,40	
1,80	1,60	1,45	1,30	1,15	1,00	0,60	7,00	4,07	3,37	2,90	2,40	
1,80	1,60	1,45	1,30	1,15	1,00	0,60	6,03	4,07	3,34	2,90	2,35	
1,80	1,60	1,45	1,30	1,15	1,00	0,50	6,00	4,07	3,33	2,90	2,30	
1,70	1,60	1,40	1,30	1,15	1,00		5,90	4,00	3,33	2,85	2,30	
1,70	1,60	1,40	1,30	1,15	1,00		5,60	3,99	3,33	2,80	2,30	
1,70	1,60	1,40	1,30	1,15	1,00		5,57	3,93	3,32	2,80	2,30	
1,70	1,55	1,40	1,30	1,15	0,95		5,49	3,88	3,31	2,75	2,30	
1,70	1,55	1,40	1,30	1,10	0,95		5,36	3,87	3,30	2,75	2,20	
1,70	1,55	1,40	1,30	1,10	0,95		5,07	3,82	3,29	2,75	2,20	
1,70	1,55	1,40	1,25	1,10	0,95		5,00	3,77	3,27	2,70	2,20	
1,70	1,55	1,40	1,25	1,10	0,95		4,99	3,75	3,24	2,70	2,20	
1,70	1,55	1,40	1,25	1,10	0,95		4,90	3,71	3,23	2,70	2,20	
1,70	1,50	1,40	1,25	1,10	0,95		4,87	3,70	3,21	2,70	2,20	
1,70	1,50	1,40	1,25	1,10	0,95		4,85	3,69	3,20	2,70	2,20	
1,70	1,50	1,40	1,25	1,10	0,90		4,83	3,64	3,18	2,70	2,20	
1,70	1,50	1,40	1,25	1,10	0,90		4,76	3,62	3,17	2,70	2,15	
1,70	1,50	1,40	1,25	1,10	0,90		4,76	3,60	3,12	2,60	2,15	
1,70	1,50	1,35	1,25	1,10	0,90		4,63	3,60	3,11	2,60	2,10	
1,70	1,50	1,35	1,20	1,10	0,90		4,62	3,55	3,10	2,60	2,10	
1,70	1,50	1,35	1,20	1,10	0,90		4,58	3,53	3,09	2,60	2,10	
1,70	1,50	1,35	1,20	1,10	0,85		4,57	3,51	3,06	2,60	2,10	
1,65	1,50	1,35	1,20	1,10	0,85		4,54	3,51	3,05	2,55	2,10	
1,65	1,50	1,30	1,20	1,05	0,85		4,45	3,51	3,04	2,50	2,10	
1,60	1,50	1,30	1,20	1,05	0,85		4,39	3,51	3,00	2,50	2,10	
1,60	1,50	1,30	1,20	1,05	0,85		4,33	3,50	3,00	2,50	2,05	
1,60	1,50	1,30	1,20	1,05	0,85		4,29	3,49	3,00	2,50	2,05	

Captura 13 Continuación		Captura 14 2/2/95									
2,05	1,70	1,40	1,10	30,88	22,67	17,86	14,17	11,77	8,95	5,31	3,70
2,05	1,70	1,40	1,10	29,22	21,98	17,47	14,15	11,68	8,52	5,30	3,61
2,05	1,70	1,40	1,10	28,90	21,91	17,29	13,85	11,68	8,38	5,16	3,53
2,00	1,70	1,40	1,10	28,83	21,73	16,55	13,85	11,63	8,00	5,16	3,46
2,00	1,70	1,40	1,10	28,77	21,64	16,52	13,76	11,59	7,94	5,03	3,37
2,00	1,65	1,40	1,10	28,63	21,63	16,42	13,75	11,52	7,78	5,03	3,36
2,00	1,60	1,40	1,05	27,89	21,58	16,35	13,54	11,17	7,66	4,98	3,34
2,00	1,60	1,40	1,05	27,84	21,54	16,24	13,53	11,02	7,55	4,87	3,33
2,00	1,60	1,35	1,05	27,69	21,43	16,20	13,52	10,90	7,52	4,77	3,31
2,00	1,60	1,35	0,90	26,80	21,29	16,19	13,35	10,75	7,26	4,72	3,22
1,95	1,60	1,35	0,90	26,52	20,85	16,16	13,30	10,72	7,16	4,69	3,20
1,95	1,60	1,35	0,85	26,05	20,77	16,11	13,17	10,70	7,11	4,67	3,17
1,90	1,60	1,35	0,85	25,81	20,60	15,99	13,11	10,68	7,08	4,65	3,15
1,90	1,60	1,30	0,85	25,55	20,45	15,95	13,09	10,61	6,61	4,53	3,11
1,90	1,60	1,30	0,80	25,41	20,26	15,87	13,08	10,57	6,48	4,51	3,10
1,90	1,60	1,30	0,70	25,39	20,10	15,83	12,76	10,39	6,43	4,50	3,01
1,90	1,60	1,30	0,65	25,36	19,87	15,76	12,74	10,33	6,12	4,42	2,94
1,90	1,60	1,30	0,65	25,36	19,68	15,49	12,73	10,24	6,07	4,36	2,92
1,90	1,60	1,30	0,50	25,10	19,55	15,43	12,73	10,22	6,01	4,35	2,91
1,90	1,55	1,30		25,05	19,49	15,28	12,57	10,22	6,00	4,32	2,90
1,90	1,55	1,30		25,04	19,12	15,17	12,54	10,10	5,90	4,31	2,90
1,85	1,55	1,30		24,80	19,09	15,15	12,33	9,87	5,85	4,29	2,86
1,85	1,55	1,25		24,65	18,85	14,84	12,25	9,85	5,84	4,26	2,85
1,80	1,50	1,25		24,40	18,71	14,69	12,19	9,81	5,59	4,23	2,81
1,80	1,50	1,20		24,11	18,69	14,50	12,13	9,73	5,54	4,22	2,68
1,80	1,50	1,20		23,91	18,60	14,43	12,12	9,69	5,52	4,02	2,55
1,80	1,50	1,20		23,83	18,53	14,43	12,02	9,59	5,50	3,98	2,14
1,80	1,50	1,20		23,74	18,51	14,36	12,00	9,23	5,42	3,95	2,09
1,80	1,50	1,20		23,69	18,44	14,34	11,97	9,20	5,36	3,94	2,02
1,75	1,45	1,15		23,48	18,33	14,25	11,95	9,11	5,36	3,71	1,82
1,75	1,45	1,15		23,09	18,10	14,24	11,78	9,04	5,34	3,70	1,80

Captura 14 Continuación	Captura 15 22/2/95										0,55
	1,65	1,38	1,19	27,33	16,24	9,54	6,03	5,19	4,29	2,96	
1,65	1,37	1,18	26,57	15,76	9,43	5,96	5,18	4,26	2,90		
1,65	1,35	1,17	25,65	15,52	9,33	5,88	5,18	4,25	2,76		
1,64	1,35	1,15	25,39	15,05	8,74	5,88	5,16	4,23	2,20		
1,60	1,35	1,15	25,05	14,64	8,52	5,83	5,15	4,21	2,10		
1,60	1,35	1,15	24,52	14,50	7,82	5,82	5,10	4,19	1,80		
1,58	1,35	1,15	24,48	14,44	7,52	5,80	5,04	4,10	1,70		
1,57	1,35	1,13	23,92	14,09	7,22	5,78	4,90	4,09	1,60		
1,55	1,35	1,10	23,45	13,83	7,21	5,75	4,88	4,05	1,60		
1,55	1,32	1,10	23,31	13,62	7,20	5,74	4,86	4,04	1,50		
1,55	1,30	1,10	23,15	13,58	7,02	5,71	4,86	4,03	1,40		
1,55	1,30	1,10	23,02	13,06	6,96	5,70	4,85	3,99	1,40		
1,55	1,30	1,10	22,49	12,56	6,87	5,70	4,84	3,97	1,30		
1,55	1,30	1,10	19,71	12,25	6,86	5,68	4,83	3,96	1,15		
1,55	1,30	1,10	19,61	12,08	6,70	5,68	4,79	3,95	1,15		
1,51	1,28	1,05	19,38	11,87	6,60	5,65	4,76	3,92	1,10		
1,50	1,25	1,05	19,10	11,83	6,58	5,58	4,68	3,88	1,10		
1,50	1,25	1,03	19,07	11,40	6,57	5,57	4,60	3,79	1,10		
1,50	1,25	1,00	18,52	11,28	6,52	5,54	4,57	3,76	1,00		
1,50	1,25	1,00	18,51	11,26	6,50	5,53	4,54	3,74	1,00		
1,50	1,25	1,00	18,49	11,04	6,39	5,48	4,54	3,72	1,00		
1,50	1,25	0,95	18,41	10,76	6,33	5,38	4,54	3,70	1,00		
1,50	1,25	0,90	18,17	10,69	6,33	5,36	4,45	3,66	0,90		
1,50	1,25	0,90	17,75	10,56	6,30	5,31	4,44	3,48	0,90		
1,45	1,25	0,90	17,66	10,46	6,30	5,30	4,44	3,47	0,80		
1,45	1,25	0,85	17,61	10,25	6,20	5,29	4,35	3,46	0,70		
1,44	1,25	0,85	17,55	10,17	6,19	5,27	4,34	3,41	0,55		
1,40	1,25	0,75	17,14	9,75	6,18	5,25	4,33	3,28			
1,40	1,20	0,70	16,88	9,72	6,17	5,23	4,33	3,28			
1,40	1,20	0,70	16,71	9,71	6,15	5,22	4,30	3,27			
1,39	1,20	0,60	16,68	9,66	6,13	5,20	4,29	3,21			





Captura 17		Captura 18										
Continuación	19/4/95											
8,52	4,16	3,00	29,50	19,89	17,88	16,26	14,73	12,81	10,90	8,24	5,22	
6,53	4,15	2,94	28,47	19,87	17,41	16,23	14,61	12,75	10,81	8,19	5,17	
6,16	4,13	2,85	28,33	19,81	17,38	16,14	14,51	12,70	10,69	7,88	5,10	
6,05	4,06	2,80	27,29	19,39	17,33	16,14	14,46	12,65	10,64	7,85	5,08	
5,94	4,05	2,80	26,31	19,32	17,28	15,73	14,44	12,64	10,55	7,70	5,06	
5,91	4,05	2,78	26,16	19,18	17,28	15,72	14,43	12,62	10,49	7,40	4,95	
5,84	3,99	2,75	26,06	19,12	17,24	15,71	14,41	12,55	10,47	7,38	4,85	
5,76	3,77	2,70	25,21	19,07	17,18	15,66	14,40	12,48	10,44	7,31	4,81	
5,69	3,77	2,60	24,91	18,97	17,11	15,65	14,33	12,47	10,35	6,97	4,74	
5,67	3,76	2,60	23,72	18,94	17,10	15,62	14,26	12,36	10,30	6,93	4,65	
5,37	3,74	2,40	23,65	18,92	17,06	15,58	14,24	12,27	10,22	6,91	4,48	
5,27	3,74	2,40	23,00	18,86	16,98	15,55	14,10	12,12	10,17	6,87	4,44	
5,24	3,71	2,20	22,80	18,80	16,96	15,54	14,01	12,02	10,12	6,74	4,40	
5,18	3,70	2,10	22,61	18,70	16,93	15,52	13,98	11,95	10,01	6,71	4,35	
4,90	3,66	2,00	22,58	18,69	16,92	15,52	13,91	11,88	9,94	6,69	4,30	
4,89	3,65	1,90	22,55	18,60	16,89	15,51	13,85	11,84	9,88	6,65	4,30	
4,75	3,56	1,80	22,50	18,60	16,87	15,51	13,84	11,83	9,75	6,62	4,25	
4,74	3,54	1,60	22,22	18,56	16,83	15,47	13,83	11,74	9,67	6,23	4,23	
4,74	3,50	1,60	22,05	18,55	16,81	15,45	13,83	11,64	9,38	6,17	4,12	
4,73	3,50	1,60	22,02	18,51	16,77	15,29	13,79	11,62	9,37	6,10	3,89	
4,71	3,50	1,55	21,74	18,43	16,75	15,27	13,65	11,61	9,36	6,03	3,75	
4,71	3,47	1,50	21,55	18,33	16,73	15,26	13,54	11,58	9,27	5,94	3,37	
4,52	3,39	1,50	21,37	18,33	16,70	15,23	13,50	11,46	9,25	5,71	3,10	
4,51	3,37	1,40	21,10	18,33	16,64	15,21	13,32	11,44	9,15	5,69	2,50	
4,41	3,32	1,30	20,65	18,29	16,62	15,20	13,31	11,44	8,98	5,68	1,90	
4,37	3,24	1,30	20,64	18,24	16,60	15,05	13,23	11,37	8,76	5,57	1,90	
4,33	3,20	1,20	20,27	18,23	16,46	15,01	13,17	11,16	8,73	5,55	1,80	
4,28	3,20	0,80	20,20	18,15	16,45	14,98	13,15	10,97	8,71	5,46	1,75	
4,26	3,08		20,08	18,15	16,35	14,95	12,97	10,94	8,65	5,40	1,40	
4,23	3,06		19,99	18,00	16,34	14,92	12,95	10,92	8,53	5,39	1,05	
4,22	3,04		19,91	17,98	16,31	14,80	12,92	10,91	8,31	5,35	1,00	

Captura 19 3/5/95		Captura 20 20/5/95									
31,92	21,24	16,69	14,87	13,73	12,26	6,88	4,27	31,89	22,62	20,37	14,48
25,79	21,22	16,61	14,87	13,67	12,19	6,81	4,22	31,80	22,44	20,18	14,43
24,61	21,17	16,49	14,87	13,62	12,15	6,80	4,18	29,44	22,37	20,03	14,05
24,45	21,14	16,40	14,84	13,57	12,12	6,64	3,89	28,73	22,30	19,76	13,89
24,13	21,07	16,39	14,75	13,56	12,02	6,56	3,68	28,51	22,07	19,76	13,85
23,50	20,91	16,29	14,74	13,53	11,94	6,53	3,61	28,15	21,98	19,40	13,63
23,24	20,87	16,10	14,73	13,46	11,65	6,51	3,45	27,87	21,96	19,40	11,77
23,10	20,68	15,98	14,72	13,46	11,56	6,44	3,16	26,81	21,70	19,33	11,46
23,07	20,60	15,95	14,72	13,32	11,34	6,30	3,15	26,01	21,69	19,07	10,98
22,83	20,50	15,82	14,69	13,29	11,16	6,06	2,96	25,85	21,68	19,01	9,29
22,75	20,15	15,72	14,63	13,29	11,08	6,05	2,47	25,39	21,62	18,92	8,94
22,68	20,07	15,66	14,62	13,27	11,01	5,93	2,39	25,14	21,57	18,72	8,79
22,68	19,99	15,64	14,56	13,25	11,01	5,92		24,94	21,56	17,84	8,64
22,62	19,90	15,61	14,52	13,24	10,91	5,88		24,83	21,56	17,78	8,39
22,40	19,70	15,60	14,50	13,13	10,31	5,75		24,15	21,54	16,92	8,37
22,31	18,68	15,54	14,50	13,13	10,09	5,73		23,90	21,50	16,39	8,32
22,27	18,51	15,54	14,39	13,10	9,98	5,72		23,67	21,43	16,36	8,24
22,24	18,41	15,48	14,37	13,06	9,98	5,71		23,24	21,40	16,30	8,18
22,22	18,36	15,44	14,36	12,95	9,26	5,59		23,23	21,34	16,28	8,08
22,14	18,32	15,44	14,33	12,91	9,10	5,45		23,08	21,25	15,76	8,04
22,10	17,98	15,37	14,28	12,80	8,46	5,36		23,07	21,24	15,76	8,00
21,84	17,84	15,30	14,19	12,79	8,01	5,16		23,06	21,21	15,73	7,98
21,80	17,83	15,27	14,14	12,74	7,39	5,06		22,95	21,08	15,72	7,88
21,73	17,77	15,25	14,13	12,73	7,36	4,85		22,95	21,08	15,62	7,87
21,67	17,70	15,22	14,07	12,60	7,31	4,74		22,94	21,04	15,49	7,87
21,61	17,54	15,14	14,02	12,55	7,19	4,50		22,92	20,92	14,85	7,84
21,48	17,08	15,12	13,90	12,44	7,15	4,49		22,87	20,87	14,78	7,83
21,46	16,90	15,09	13,90	12,35	7,11	4,40		22,80	20,80	14,74	7,79
21,40	16,90	14,96	13,86	12,32	7,06	4,39		22,71	20,80	14,66	7,70
21,39	16,87	14,95	13,86	12,29	6,99	4,33		22,70	20,58	14,66	7,66
21,39	16,70	14,92	13,73	12,27	6,96	4,28		22,69	20,49	14,51	7,54

Captura 20 Continuación	Captura 21 7/6/95									
	7,53	6,87	6,52	6,21	5,86	5,40	3,94	1,70	0,80	
7,46	6,86	6,52	6,21	5,85	5,38	3,88	1,70	29,46	21,84	
7,44	6,78	6,51	6,19	5,83	5,34	3,85	1,65	28,00	21,69	
7,42	6,76	6,50	6,19	5,82	5,27	3,82	1,60	27,25	21,66	
7,41	6,75	6,50	6,18	5,81	5,25	3,79	1,60	27,08	21,55	
7,39	6,74	6,49	6,18	5,80	5,25	3,60	1,60	25,09	21,48	
7,36	6,74	6,49	6,18	5,79	5,20	3,60	1,60	24,99	20,71	
7,31	6,73	6,47	6,18	5,77	5,16	3,55	1,60	24,59	20,27	
7,29	6,73	6,46	6,16	5,76	5,15	3,55	1,60	24,32	20,22	
7,28	6,73	6,45	6,12	5,76	5,14	3,40	1,55	24,16	19,95	
7,26	6,73	6,44	6,11	5,76	5,09	3,31	1,55	24,03	18,62	
7,21	6,71	6,44	6,11	5,75	5,07	3,27	1,55	23,83	18,43	
7,20	6,71	6,40	6,10	5,74	5,06	3,20	1,50	23,69	17,94	
7,19	6,70	6,40	6,06	5,73	5,05	3,00	1,50	23,64	17,67	
7,10	6,70	6,38	6,05	5,70	5,00	2,97	1,50	23,53	17,10	
7,09	6,68	6,37	6,04	5,67	4,94	2,97	1,50	23,47	16,98	
7,09	6,66	6,37	6,03	5,67	4,94	2,92	1,45	23,30	16,87	
7,09	6,65	6,35	6,02	5,65	4,93	2,82	1,40	23,27	16,26	
7,07	6,65	6,34	6,01	5,65	4,92	2,70	1,40	23,12	16,26	
7,06	6,64	6,34	6,00	5,62	4,91	2,70	1,35	22,96	16,20	
7,05	6,62	6,31	6,00	5,61	4,90	2,70	1,30	22,95	16,16	
7,05	6,61	6,31	5,99	5,61	4,90	2,70	1,30	22,94	16,15	
7,03	6,59	6,31	5,99	5,58	4,89	2,50	1,30	22,83	16,06	
7,02	6,58	6,30	5,97	5,58	4,89	2,50	1,25	22,76	15,93	
7,02	6,58	6,29	5,96	5,56	4,82	2,40	1,15	22,55	15,92	
7,00	6,56	6,29	5,96	5,55	4,79	2,15	1,15	22,44	15,89	
6,92	6,56	6,27	5,95	5,55	4,77	2,10	1,10	22,14	15,88	
6,89	6,55	6,27	5,93	5,54	4,67	1,90	1,10	22,14	15,62	
6,89	6,54	6,27	5,91	5,49	4,58	1,80	1,05	22,05	15,58	
6,88	6,54	6,24	5,91	5,49	4,55	1,75	1,05	22,05	15,52	
6,88	6,53	6,22	5,88	5,48	4,37	1,75	0,95	22,03	15,24	
				5,40	4,14	1,75	0,90	21,87	15,11	

Captura 21 Continuación		Captura 22 22/6/95									
15,07	8,49	7,33	5,73	4,58	3,56	2,70	2,08	24,66	19,04	16,10	
15,03	8,49	7,22	5,72	4,51	3,49	2,65	2,08	24,57	18,97	16,04	
14,86	8,43	7,18	5,70	4,49	3,48	2,60	2,05	24,47	18,96	16,02	
14,54	8,33	7,12	5,68	4,43	3,44	2,60	2,05	23,87	18,67	15,97	
14,51	8,31	7,12	5,67	4,43	3,39	2,60	2,00	23,34	18,61	15,93	
14,30	8,20	7,07	5,65	4,37	3,39	2,60	2,00	22,67	18,43	15,88	
14,27	8,19	7,03	5,65	4,33	3,38	2,60	2,00	22,46	17,98	15,86	
14,26	8,15	6,95	5,62	4,30	3,36	2,57	1,95	22,30	17,95	15,70	
14,17	8,12	6,94	5,55	4,29	3,36	2,55	1,90	22,10	17,79	15,64	
13,54	8,11	6,87	5,53	4,28	3,31	2,50	1,90	21,54	17,78	15,64	
13,04	8,06	6,80	5,46	4,27	3,29	2,50	1,80	21,34	17,71	15,64	
13,02	8,04	6,79	5,39	4,16	3,27	2,50	1,80	21,08	17,49	15,63	
12,45	8,02	6,62	5,37	4,11	3,20	2,45	1,80	20,90	17,41	15,38	
11,92	7,97	6,61	5,31	4,09	3,20	2,40	1,70	20,78	17,40	15,28	
10,97	7,95	6,51	5,29	4,04	3,13	2,38	1,70	20,73	17,38	15,24	
9,91	7,94	6,47	5,23	3,93	3,10	2,37	1,70	20,64	17,24	15,14	
9,91	7,87	6,47	5,19	3,87	3,10	2,35	1,65	20,64	17,23	15,01	
9,86	7,85	6,43	5,18	3,86	3,09	2,35	1,65	20,61	17,20	15,00	
9,78	7,78	6,43	5,09	3,84	3,08	2,35	1,62	20,41	17,07	14,87	
9,56	7,77	6,40	5,07	3,83	3,08	2,35	1,60	20,28	17,04	14,85	
9,26	7,76	6,24	5,06	3,83	3,05	2,33	1,55	20,17	16,94	14,69	
9,13	7,74	6,24	5,06	3,82	3,00	2,30	1,51	20,09	16,89	14,54	
9,00	7,60	6,21	5,01	3,79	3,00	2,26	1,10	20,09	16,82	14,51	
8,97	7,57	6,18	4,98	3,76	2,93	2,24		19,87	16,66	14,46	
8,90	7,57	6,16	4,88	3,75	2,92	2,20		19,86	16,64	14,40	
8,89	7,56	6,09	4,84	3,73	2,92	2,10		19,85	16,63	14,38	
8,88	7,54	6,07	4,76	3,73	2,90	2,10		19,80	16,48	14,31	
8,87	7,54	6,01	4,74	3,71	2,85	2,10		19,46	16,38	14,30	
8,71	7,51	5,99	4,72	3,70	2,80	2,10		19,34	16,34	14,28	
8,59	7,43	5,88	4,71	3,69	2,74	2,10		19,15	16,19	14,24	
8,58	7,36	5,83	4,63	3,62	2,71	2,10		19,06	16,12	14,22	

Captura 22  
Continuación

14,16	12,50	8,52	4,65	2,42
14,12	12,37	8,51	4,52	2,20
14,07	12,26	8,48	4,43	2,20
14,06	12,21	8,47	4,26	2,20
14,05	12,05	8,31	4,07	2,00
14,03	11,95	8,17	4,05	1,90
13,99	11,90	8,17	3,97	1,90
13,96	11,56	8,09	3,95	1,90
13,78	11,54	7,93	3,89	1,90
13,75	11,40	7,80	3,70	
13,73	10,93	7,59	3,50	
13,67	10,90	7,54	3,42	
13,56	10,26	7,41	3,38	
13,53	9,73	7,21	3,38	
13,52	9,67	7,01	3,37	
13,50	9,63	7,01	3,16	
13,39	9,57	6,89	3,15	
13,38	9,47	6,85	3,10	
13,38	9,46	6,71	3,09	
13,33	9,28	6,70	2,80	
13,30	9,17	6,63	2,80	
13,29	9,14	6,60	2,80	
13,26	8,97	6,51	2,79	
13,20	8,89	6,40	2,70	
13,13	8,87	6,25	2,60	
13,00	8,85	5,36	2,60	
12,83	8,84	5,31	2,57	
12,81	8,76	5,17	2,50	
12,77	8,75	5,02	2,50	
12,64	8,69	4,72	2,50	
12,58	8,64	4,71	2,50	







Captura 25 Continuación	Captura 26 12/9/95										
	8,44	7,25	6,63	5,58	4,70	32,42	23,35	20,66	16,74	14,58	12,52
8,43	8,43	7,25	6,61	5,57	4,48	31,65	23,28	20,52	16,69	14,58	12,48
8,43	8,43	7,22	6,60	5,55	4,22	31,20	22,98	20,34	16,43	14,47	12,38
8,39	8,39	7,22	6,59	5,49	4,19	31,16	22,87	20,30	16,42	14,46	12,34
8,38	8,38	7,19	6,54	5,48	4,16	30,77	22,79	19,97	16,40	14,28	12,33
8,35	8,35	7,09	6,50	5,47	4,07	30,47	22,65	19,89	16,38	14,24	12,19
8,25	8,25	7,09	6,47	5,44	3,96	29,88	22,63	19,75	16,34	14,15	12,19
8,25	8,25	7,08	6,44	5,43	3,95	29,68	22,53	19,64	16,09	14,13	12,09
8,15	8,15	7,06	6,35	5,41	3,93	29,59	22,41	19,45	15,94	14,07	12,08
8,01	8,01	6,99	6,28	5,38		29,17	22,39	19,45	15,82	14,03	11,88
8,01	8,01	6,95	6,28	5,36		28,93	22,35	19,38	15,82	14,02	11,76
8,00	8,00	6,94	6,25	5,35		28,53	22,33	19,35	15,77	13,90	11,58
7,99	7,99	6,90	6,20	5,30		27,56	22,32	19,30	15,76	13,90	11,55
7,99	7,99	6,90	6,18	5,29		27,35	22,31	19,26	15,70	13,79	11,53
7,89	7,89	6,88	6,16	5,27		26,40	22,10	19,08	15,61	13,77	11,48
7,87	7,87	6,88	6,12	5,27		26,21	22,07	18,64	15,56	13,49	11,45
7,84	7,84	6,88	6,11	5,23		26,21	22,06	18,50	15,48	13,42	11,33
7,83	7,83	6,84	6,10	5,23		25,98	21,92	18,44	15,43	13,39	11,27
7,78	7,78	6,81	6,08	5,22		25,93	21,77	18,41	15,37	13,25	11,23
7,65	7,65	6,79	6,05	5,11		25,93	21,57	18,05	15,35	13,24	11,23
7,62	7,62	6,78	5,96	5,09		25,52	21,52	17,76	15,32	13,23	11,22
7,59	7,59	6,78	5,96	5,09		25,45	21,31	17,58	15,30	13,17	11,14
7,50	7,50	6,75	5,94	5,08		24,92	21,29	17,43	15,03	13,12	11,08
7,49	7,49	6,73	5,93	5,06		24,34	21,15	17,43	15,01	12,95	11,04
7,49	7,49	6,72	5,92	5,05		24,32	21,04	17,39	14,98	12,95	11,03
7,44	7,44	6,71	5,91	4,91		24,21	20,97	17,27	14,92	12,86	10,94
7,43	7,43	6,71	5,87	4,90		24,20	20,95	17,26	14,87	12,65	10,93
7,42	7,42	6,67	5,79	4,86		24,04	20,89	17,17	14,78	12,64	10,80
7,32	7,32	6,66	5,78	4,79		23,94	20,85	16,89	14,73	12,60	10,76
7,30	7,30	6,65	5,73	4,76		23,63	20,81	16,89	14,65	12,59	10,71
7,26	7,26	6,64	5,62	4,74		23,39	20,75	16,75	14,59	12,57	10,68

Captura 26 Continuación	Captura 27 2/10/95	8,98	7,04	5,60	12,81	10,92	10,06	9,51	8,78	8,26	7,66
10,61	26,89	8,98	7,04	5,60	12,81	10,92	10,06	9,51	8,78	8,26	7,66
10,60	25,27	8,88	6,96	5,49	12,66	10,87	10,06	9,50	8,76	8,26	7,65
10,55	25,27	8,73	6,89	5,43	12,52	10,87	10,00	9,46	8,70	8,23	7,64
10,55	24,78	8,66	6,89	5,40	12,39	10,87	9,99	9,41	8,69	8,23	7,63
10,55	23,40	8,65	6,86	5,37	12,33	10,86	9,97	9,41	8,69	8,23	7,63
10,55	22,95	8,59	6,79	5,28	12,29	10,76	9,97	9,38	8,66	8,20	7,62
10,52	19,14	8,55	6,77	5,19	12,26	10,76	9,97	9,35	8,63	8,18	7,62
10,50	19,02	8,52	6,76	5,01	12,10	10,71	9,97	9,34	8,63	8,17	7,59
10,48	19,01	8,45	6,68	4,97	12,01	10,71	9,88	9,32	8,63	8,16	7,59
10,28	18,58	8,30	6,66	4,76	11,98	10,71	9,84	9,27	8,61	8,16	7,56
10,24	18,48	8,15	6,62	4,71	11,97	10,68	9,84	9,18	8,61	8,16	7,54
10,09	17,72	7,94	6,60	4,70	11,96	10,68	9,83	9,14	8,60	8,15	7,52
10,01	17,71	7,93	6,57	4,33	11,94	10,63	9,82	9,14	8,57	8,15	7,52
9,99	17,48	7,86	6,54	4,18	11,82	10,55	9,82	9,13	8,56	8,15	7,52
9,96	17,33	7,81	6,53	3,57	11,73	10,53	9,81	9,13	8,53	8,13	7,51
9,95	17,28	7,63	6,51	3,50	11,56	10,51	9,80	9,12	8,51	8,02	7,47
9,90	17,12	7,60	6,48	2,99	11,54	10,50	9,78	9,09	8,51	8,02	7,44
9,82	17,00	7,55	6,44		11,51	10,48	9,75	9,03	8,46	7,98	7,43
9,71	16,96	7,54	6,33		11,46	10,37	9,72	8,98	8,45	7,97	7,43
9,53	16,31	7,42	6,28		11,44	10,37	9,71	8,98	8,44	7,97	7,42
9,53	16,17	7,41	6,18		11,36	10,37	9,70	8,97	8,44	7,96	7,41
9,51	15,75	7,39	6,10		11,35	10,36	9,69	8,97	8,41	7,96	7,39
9,44	15,71	7,33	6,07		11,28	10,34	9,68	8,97	8,41	7,95	7,35
9,40	15,44	7,23	5,96		11,24	10,30	9,67	8,96	8,40	7,94	7,32
9,40	15,43	7,21	5,92		11,20	10,27	9,66	8,93	8,36	7,91	7,30
9,25	14,42	7,20	5,88		11,18	10,15	9,65	8,93	8,33	7,86	7,28
9,25	13,90	7,17	5,77		11,16	10,14	9,60	8,92	8,33	7,84	7,25
9,20	13,65	7,14	5,71		11,10	10,10	9,59	8,90	8,31	7,82	7,23
9,09	13,63	7,13	5,71		11,05	10,09	9,55	8,86	8,30	7,79	7,22
9,08	13,29	7,06	5,70		11,04	10,08	9,55	8,84	8,29	7,79	7,22
9,06	12,86	7,06	5,70		10,98	10,08	9,53	8,83	8,26	7,76	7,20

Captura 27 Continuación	Captura 28 16/10/95
7,19	29,43
7,13	28,51
7,12	27,04
7,12	26,48
7,07	26,27
7,01	26,21
6,99	26,18
6,94	25,97
6,94	25,86
6,90	25,65
6,89	25,58
6,87	25,31
6,81	25,23
6,81	24,97
6,79	24,92
6,78	24,84
6,78	24,75
6,77	24,73
6,77	24,49
6,76	24,45
6,73	24,36
6,62	24,36
6,60	24,24
6,58	24,16
6,55	24,03
6,51	23,98
6,43	23,91
6,43	23,80
6,42	23,71
6,36	23,68
6,35	23,68
6,31	23,65
6,29	23,42
6,25	23,41
6,23	23,33
6,23	23,09
5,96	22,76
5,88	22,10
5,78	22,07
5,75	22,03
5,67	21,93
5,65	21,42
5,65	21,34
5,33	20,77
5,31	20,75
5,31	19,30
5,17	19,08
4,97	18,88
4,97	18,55
4,97	18,22
4,94	18,19
4,91	18,09
3,82	18,05
3,75	18,01
3,65	17,14
3,54	16,49
3,51	15,76
3,24	15,52
	14,24
	13,42
	12,34
	12,27
	12,10
	12,06
	12,05
	11,76
	11,74
	11,72
	11,69
	11,60
	11,46
	11,44
	11,41
	11,30
	11,15
	11,14
	11,12
	11,10
	11,10
	11,07
	10,99
	10,89
	10,89
	10,80
	10,72
	10,58
	10,55
	10,53
	10,52
	10,49
	10,41
	10,39
	10,38
	10,38
	10,36
	10,34
	10,31
	10,21
	10,15
	10,15
	10,21
	10,37
	9,97
	9,96
	9,92
	9,83
	9,82
	9,81
	9,74
	9,68
	9,66
	9,65
	9,63
	9,61
	9,58
	9,56
	9,47
	9,46
	9,42
	9,38
	9,38
	9,38
	9,36
	9,34
	9,34
	9,31
	9,30
	9,21
	9,15
	9,09
	9,09
	9,01
	9,00
	8,98
	8,95
	8,91
	8,89
	8,83
	8,77
	8,73
	8,69
	8,64
	8,62
	8,57
	8,52
	8,51
	8,46
	8,43
	8,43
	8,40
	8,34
	8,32
	8,30
	8,29
	8,14
	8,12
	8,11
	7,99
	7,96
	7,95
	7,89
	7,85
	7,85
	7,83
	7,82
	7,81
	7,76
	7,76
	7,70
	7,68
	7,63
	7,59
	7,56
	7,45
	7,40
	7,40
	7,39
	7,34
	7,32
	7,26
	7,25
	7,20
	7,16
	7,06
	6,92
	6,91
	6,83
	6,81
	6,80
	6,79
	6,76
	6,74
	6,58
	6,44
	6,17
	6,15
	6,08
	5,58
	5,57
	5,45
	5,25
	5,18
	2,70
	1,90
	1,65
	1,60
	1,55
	1,50
	1,30
	1,30
	1,05
	0,80
	0,60





Captura 30															Captura 31		
Continuación															12/12/95		
12,69	11,79	10,93	10,03	9,40	8,42	7,49	1,90								32,79	20,83	16,30
12,67	11,79	10,91	10,02	9,29	8,30	7,47	1,80								30,54	20,67	16,28
12,60	11,78	10,89	10,01	9,24	8,30	7,41	1,60								27,41	20,25	15,77
12,52	11,75	10,87	10,00	9,14	8,29	7,07	1,60								26,58	20,25	15,76
12,51	11,73	10,86	9,99	9,14	8,27	7,00	1,50								26,37	20,20	15,10
12,46	11,73	10,85	9,98	9,14	8,23	6,95	1,45								26,03	20,18	15,08
12,40	11,71	10,81	9,97	9,13	8,20	6,94	1,40								25,74	20,09	15,02
12,40	11,69	10,75	9,93	9,08	8,20	6,75	1,30								25,65	19,62	14,97
12,36	11,69	10,75	9,88	9,01	8,15	6,68	1,30								25,50	19,43	14,96
12,35	11,67	10,72	9,82	8,97	8,12	6,65	1,30								25,43	19,38	14,70
12,30	11,64	10,72	9,76	8,97	8,11	6,59	1,20								25,13	19,16	14,57
12,30	11,64	10,71	9,74	8,96	8,11	6,43	1,15								25,02	19,12	14,51
12,24	11,63	10,61	9,72	8,95	8,09	6,33	1,15								24,97	18,94	14,41
12,22	11,63	10,60	9,70	8,95	8,08	6,31	1,10								24,27	18,85	14,38
12,18	11,63	10,58	9,67	8,94	8,06	6,30	1,10								23,98	18,30	14,37
12,17	11,58	10,58	9,66	8,90	8,06	5,87	0,90								23,51	18,30	14,36
12,08	11,52	10,51	9,65	8,90	8,06	5,02	0,85								23,36	18,19	14,33
12,02	11,52	10,50	9,64	8,90	8,05	4,54	0,85								23,30	18,11	14,24
12,00	11,51	10,49	9,59	8,83	8,02	4,47	0,80								23,28	18,02	14,12
11,98	11,48	10,46	9,58	8,80	8,02	4,14	0,75								23,26	17,94	14,09
11,97	11,45	10,42	9,55	8,79	8,02	3,99	0,75								23,26	17,88	13,75
11,95	11,37	10,42	9,53	8,69	7,97	3,53	0,70								23,22	17,81	13,73
11,92	11,34	10,40	9,51	8,67	7,94	3,25	0,70								22,78	17,73	13,69
11,91	11,26	10,38	9,49	8,61	7,91	3,02	0,70								22,68	17,62	13,52
11,87	11,23	10,35	9,49	8,59	7,80	2,70	0,55								22,25	17,60	13,45
11,86	11,22	10,24	9,49	8,55	7,73	2,60	0,55								21,84	17,48	13,41
11,84	11,21	10,14	9,47	8,55	7,70	2,30	0,55								21,52	17,43	13,36
11,84	11,19	10,13	9,46	8,54	7,60	2,10	0,50								21,32	17,23	13,24
11,82	11,09	10,11	9,44	8,54	7,54	2,00	0,35								21,17	17,00	13,24
11,82	11,00	10,03	9,41	8,50	7,51	1,90									21,00	16,89	13,21
11,80	10,98	10,03	9,40	8,48	7,49	1,90									20,91	16,58	13,20

Captura 31		Captura 32										
Continuación		5/2/96										
13,18	11,75	10,60	9,82	8,96	6,00	1,35	20,44	10,39	8,06	6,53	4,75	
13,15	11,72	10,59	9,77	8,88	6,00	1,35	19,98	10,24	7,95	6,50	4,73	
13,09	11,61	10,55	9,72	8,86	5,88	1,30	18,29	10,07	7,91	6,50	4,72	
13,06	11,60	10,53	9,69	8,70	5,59	1,20	17,42	10,04	7,90	6,39	4,63	
13,06	11,48	10,53	9,69	8,67	5,44	1,20	16,12	9,98	7,89	6,37	4,60	
13,05	11,42	10,45	9,66	8,63	5,17		16,03	9,96	7,86	6,28	4,39	
13,03	11,42	10,45	9,66	8,62	5,06		15,14	9,95	7,83	6,19	4,38	
13,01	11,38	10,44	9,65	8,55	4,69		15,10	9,72	7,81	6,14	4,35	
12,98	11,34	10,42	9,65	8,53	4,62		14,50	9,67	7,79	6,12	4,31	
12,90	11,34	10,37	9,63	8,50	4,44		14,35	9,59	7,78	6,07	4,20	
12,79	11,30	10,35	9,59	8,39	4,22		13,80	9,58	7,78	6,04	4,01	
12,78	11,28	10,30	9,48	8,27	4,22		13,77	9,56	7,73	6,04	4,00	
12,70	11,26	10,29	9,45	8,26	3,97		13,16	9,55	7,62	6,03	3,91	
12,67	11,22	10,19	9,43	8,25	3,82		13,10	9,55	7,58	6,02	3,90	
12,67	11,17	10,17	9,41	8,22	3,64		12,88	9,45	7,42	5,96	3,89	
12,54	11,16	10,14	9,31	8,18	3,57		12,67	9,37	7,41	5,91	3,84	
12,50	11,10	10,13	9,28	8,18	3,53		12,65	9,34	7,35	5,90	3,82	
12,49	11,05	10,12	9,27	8,10	3,47		12,34	9,28	7,29	5,75	3,79	
12,47	10,92	10,12	9,26	8,01	3,35		12,30	9,18	7,24	5,75	3,52	
12,35	10,88	10,11	9,24	7,99	3,31		11,99	8,92	7,22	5,65	3,49	
12,33	10,87	10,10	9,23	7,93	3,00		11,92	8,85	7,18	5,45	3,38	
12,27	10,83	10,00	9,22	7,84	2,96		11,67	8,79	7,14	5,40	3,31	
12,12	10,78	9,98	9,20	7,67	2,71		11,61	8,74	7,08	5,30	3,05	
12,08	10,75	9,97	9,16	7,57	2,70		11,55	8,49	7,04	5,24	1,00	
12,05	10,70	9,95	9,14	7,34	2,60		11,47	8,48	7,02	5,23		
12,04	10,65	9,93	9,13	7,32	2,55		11,15	8,46	6,98	5,08		
12,00	10,64	9,92	9,12	6,95	1,90		10,97	8,45	6,97	5,08		
11,90	10,64	9,91	9,11	6,73	1,65		10,93	8,30	6,91	4,93		
11,87	10,64	9,89	9,10	6,20	1,60		10,91	8,28	6,84	4,89		
11,83	10,62	9,89	8,99	6,11	1,60		10,88	8,16	6,74	4,85		
11,80	10,61	9,85	8,96	6,10	1,60		10,58	8,10	6,63	4,76		

Captura 33 22/2/96							Captura 34 11/3/96						
28,49	14,38	12,71	11,52	10,07	9,04	7,51	31,39	13,51	11,92	10,37	9,16		
26,45	14,31	12,69	11,49	10,00	9,04	7,43	25,15	13,49	11,89	10,33	9,15		
25,84	14,28	12,66	11,38	9,99	8,99	7,27	24,27	13,37	11,88	10,31	9,14		
25,30	14,14	12,62	11,33	9,99	8,96	7,07	24,15	13,18	11,82	10,31	9,14		
23,30	14,05	12,60	11,32	9,97	8,88	6,74	22,69	13,10	11,75	10,30	9,13		
22,12	13,94	12,52	11,29	9,94	8,86	6,59	21,77	13,05	11,74	10,15	9,12		
21,79	13,86	12,51	11,27	9,93	8,82	6,57	20,71	13,05	11,54	10,08	9,12		
21,76	13,78	12,46	11,22	9,83	8,81	6,39	19,31	13,00	11,49	10,03	9,10		
20,96	13,64	12,46	11,18	9,83	8,71	5,76	19,24	12,98	11,44	10,00	9,08		
20,82	13,64	12,39	11,12	9,76	8,69	5,34	18,87	12,98	11,36	9,96	9,06		
18,48	13,60	12,21	11,12	9,73	8,66	4,90	17,92	12,93	11,34	9,96	8,98		
17,74	13,58	12,17	11,09	9,72	8,61	4,63	17,85	12,75	11,32	9,91	8,96		
17,58	13,53	12,08	11,07	9,58	8,59	4,55	17,71	12,73	11,29	9,87	8,91		
17,42	13,51	12,07	11,06	9,48	8,52	3,77	17,50	12,72	11,17	9,79	8,89		
17,41	13,48	12,04	11,03	9,48	8,51		17,15	12,70	11,16	9,78	8,88		
17,10	13,45	12,03	10,89	9,41	8,46		16,96	12,69	11,13	9,77	8,82		
16,93	13,42	11,99	10,86	9,40	8,40		16,27	12,65	11,05	9,72	8,80		
16,79	13,36	11,96	10,79	9,40	8,31		16,08	12,52	10,94	9,68	8,66		
16,30	13,31	11,95	10,76	9,35	8,30		15,74	12,47	10,93	9,67	8,65		
16,07	13,25	11,94	10,70	9,34	8,15		15,42	12,42	10,82	9,67	8,63		
15,99	13,24	11,93	10,54	9,33	8,13		14,96	12,37	10,81	9,65	8,60		
15,35	13,16	11,87	10,50	9,32	8,12		14,77	12,36	10,80	9,58	8,51		
15,24	13,08	11,82	10,45	9,30	8,02		14,72	12,34	10,79	9,47	8,44		
14,98	13,07	11,78	10,44	9,29	8,02		14,67	12,26	10,76	9,45	8,42		
14,96	12,95	11,68	10,44	9,27	8,02		14,59	12,25	10,72	9,42	8,42		
14,91	12,91	11,68	10,37	9,21	8,01		14,53	12,22	10,57	9,36	8,40		
14,68	12,89	11,64	10,30	9,13	7,91		14,25	12,10	10,49	9,35	8,38		
14,62	12,84	11,62	10,28	9,10	7,88		14,23	12,07	10,46	9,33	8,35		
14,59	12,84	11,55	10,27	9,09	7,73		14,15	12,05	10,41	9,27	8,34		
14,55	12,82	11,53	10,15	9,07	7,60		13,91	12,02	10,40	9,27	8,30		
14,49	12,76	11,52	10,15	9,05	7,56		13,85	11,92	10,39	9,18	8,21		

Captura 34		Captura 35									
Continuación		26/3/96									
8,17	5,55	28,95	20,60	14,48	13,15	11,75	10,32	8,58	7,26	5,55	
8,12	5,38	27,60	20,49	14,40	13,10	11,63	10,31	8,54	7,25	5,36	
8,02	5,31	27,26	20,25	14,30	12,95	11,48	10,30	8,54	7,24	5,26	
7,94	5,11	25,57	20,18	14,28	12,90	11,44	10,18	8,53	7,20	5,23	
7,93	4,74	25,03	19,93	14,23	12,87	11,43	10,18	8,48	7,18	4,74	
7,92	4,35	25,00	19,49	14,21	12,73	11,40	10,14	8,40	7,04	4,70	
7,91	3,75	24,72	19,30	14,12	12,72	11,38	10,14	8,29	7,01	4,70	
7,83	3,75	24,42	18,93	14,10	12,70	11,34	10,13	8,26	6,98	4,63	
7,73	3,74	23,58	18,63	14,05	12,69	11,30	10,11	8,20	6,94	4,55	
7,65	3,53	23,52	18,30	14,03	12,60	11,30	10,07	8,09	6,93	4,53	
7,54	3,44	23,50	17,57	14,02	12,58	11,26	10,01	8,07	6,93	4,43	
7,53		23,14	17,53	13,95	12,52	11,22	10,00	8,06	6,86	4,36	
7,52		22,95	16,95	13,94	12,51	11,20	9,91	8,00	6,82	4,33	
7,51		22,54	16,67	13,93	12,47	11,19	9,90	7,93	6,68	4,07	
7,50		22,52	16,46	13,87	12,46	11,13	9,85	7,90	6,62	3,88	
7,49		22,46	16,32	13,83	12,46	11,08	9,74	7,87	6,60	3,86	
7,49		22,45	16,30	13,81	12,42	11,08	9,66	7,79	6,57	2,65	
7,48		22,31	16,30	13,80	12,41	11,01	9,65	7,78	6,50	1,85	
7,45		21,90	16,29	13,77	12,39	10,98	9,60	7,74	6,47		
7,44		21,87	16,12	13,73	12,28	10,93	9,48	7,72	6,41		
7,30		21,62	15,92	13,68	12,25	10,91	9,44	7,66	6,29		
7,26		21,59	15,78	13,62	12,24	10,90	9,42	7,65	6,26		
6,93		21,46	15,74	13,50	12,20	10,64	9,30	7,60	6,18		
6,87		21,45	15,22	13,38	12,16	10,60	9,27	7,49	6,17		
6,70		21,43	15,05	13,36	12,10	10,60	9,14	7,46	6,16		
6,63		21,37	14,94	13,30	12,05	10,59	9,13	7,46	6,05		
6,58		21,29	14,92	13,30	12,00	10,59	9,06	7,42	6,03		
6,17		21,23	14,87	13,27	12,00	10,53	9,02	7,40	5,81		
6,10		21,14	14,82	13,22	11,85	10,51	8,98	7,35	5,78		
5,77		20,96	14,57	13,21	11,82	10,48	8,93	7,35	5,67		
5,72		20,80	14,55	13,19	11,79	10,32	8,90	7,28	5,64		



Captura 36 16/4/96
-----------------------

24,36	15,48	13,75	12,92	12,30	11,86	11,28	10,17	9,17	7,45
21,50	15,47	13,74	12,91	12,29	11,83	11,26	10,17	9,13	7,36
20,66	15,43	13,73	12,91	12,27	11,83	11,14	10,15	9,08	7,26
20,27	15,24	13,59	12,89	12,24	11,82	11,13	10,12	9,07	6,82
20,01	15,23	13,58	12,84	12,22	11,82	11,09	10,05	9,02	6,75
19,87	15,22	13,51	12,83	12,22	11,79	11,08	10,02	8,92	6,47
19,81	15,13	13,50	12,80	12,18	11,78	11,00	9,93	8,90	6,10
19,57	15,10	13,49	12,78	12,17	11,74	10,98	9,88	8,87	5,78
19,53	15,10	13,47	12,74	12,15	11,73	10,90	9,85	8,86	5,68
19,50	14,88	13,47	12,72	12,14	11,73	10,90	9,83	8,84	
19,22	14,85	13,41	12,68	12,11	11,65	10,89	9,81	8,80	
18,92	14,84	13,39	12,64	12,08	11,62	10,85	9,79	8,79	
17,91	14,63	13,37	12,63	12,08	11,62	10,80	9,74	8,77	
17,53	14,55	13,37	12,60	12,07	11,57	10,80	9,70	8,66	
17,50	14,49	13,33	12,58	12,06	11,53	10,79	9,69	8,64	
16,84	14,43	13,28	12,58	12,05	11,53	10,72	9,66	8,60	
16,55	14,43	13,23	12,54	12,02	11,50	10,70	9,65	8,58	
16,49	14,42	13,22	12,52	12,02	11,50	10,69	9,43	8,57	
16,16	14,40	13,21	12,52	12,02	11,49	10,63	9,42	8,51	
16,10	14,34	13,18	12,48	12,00	11,49	10,63	9,41	8,50	
15,99	14,27	13,15	12,46	11,99	11,43	10,55	9,39	8,46	
15,95	14,23	13,09	12,45	11,99	11,43	10,54	9,38	8,38	
15,95	14,20	13,07	12,44	11,99	11,42	10,47	9,37	8,37	
15,87	14,09	13,05	12,43	11,97	11,41	10,46	9,37	8,34	
15,80	14,08	13,04	12,41	11,97	11,38	10,45	9,35	8,31	
15,79	14,07	13,04	12,36	11,96	11,35	10,44	9,34	8,23	
15,70	14,05	13,01	12,36	11,91	11,34	10,42	9,33	7,91	
15,65	14,05	13,00	12,34	11,88	11,34	10,41	9,32	7,88	
15,50	13,87	12,98	12,33	11,87	11,31	10,36	9,30	7,87	
15,50	13,80	12,97	12,32	11,87	11,30	10,20	9,23	7,67	
15,48	13,77	12,93	12,31	11,86	11,30	10,17	9,22	7,54	

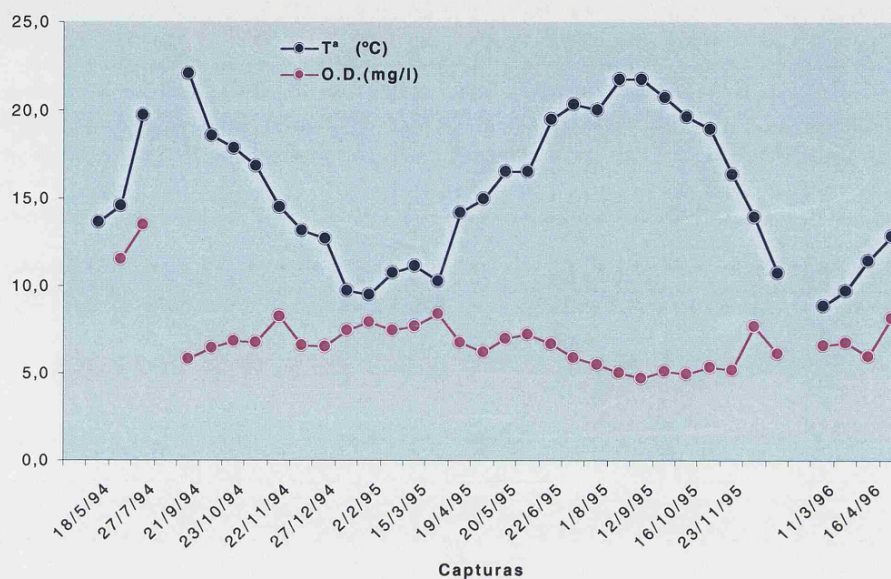
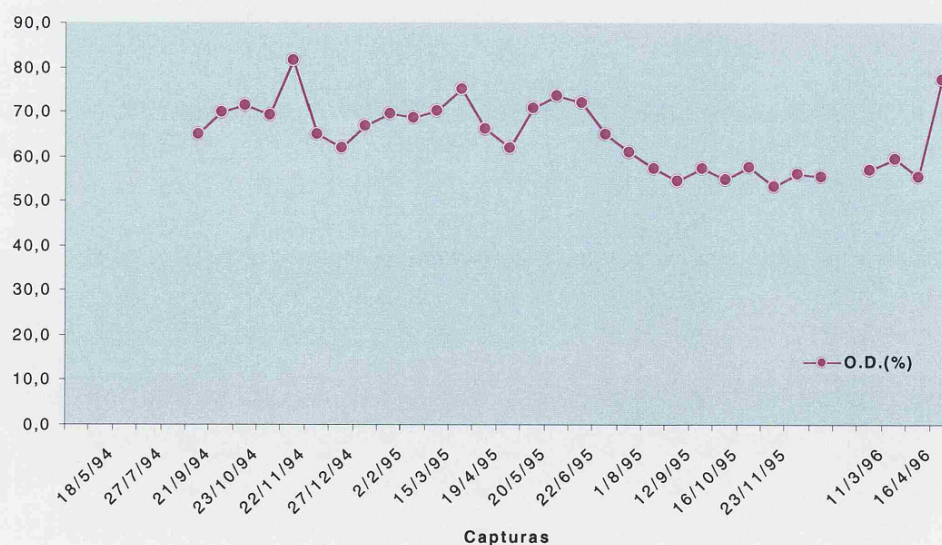


APÉNDICE 2: Valores de los parámetros físico-químicos del agua de la estación "Río Miño Playa" en cada muestreo. **T<sup>a</sup>**: Temperatura del agua (°C); **O.D.**: oxígeno disuelto (mg/l); **Ca**: Calcio (mg/l); **Alcal.**: Alcalinidad (mmol/l); **D.Carb.**: dureza de carbonatos (°dh); **D.total**: dureza total (°dh); **Conduct.**: conductividad (μs).

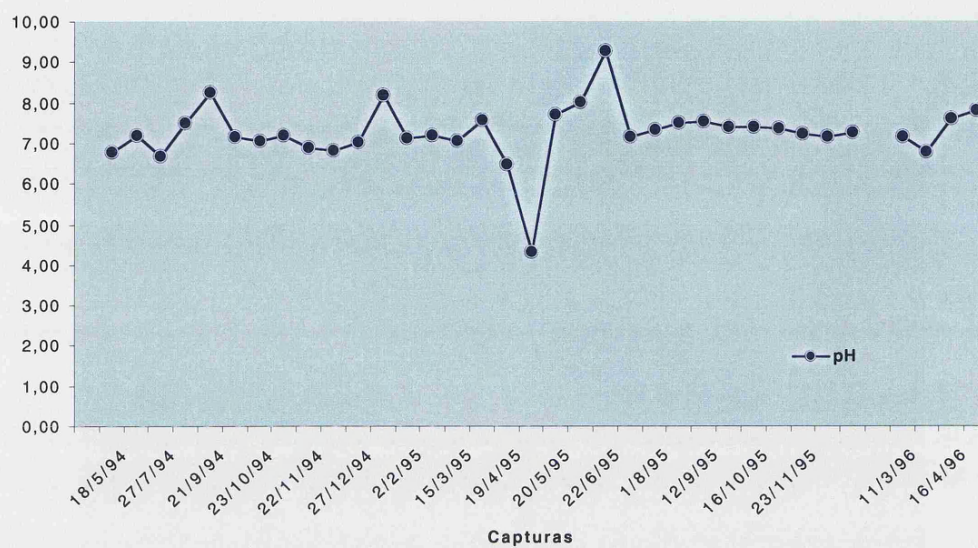
Capturas	Meses	T <sup>a</sup>	pH	O.D.(mg/l)	O.D.(%)	Ca	Alcal.	D.Carb.	D. Total	Conduct.(25°C)	Conduct.(T <sup>a</sup> )
1	20/4/94	13,7	6,80			10	0,6	0,8	1,6	96	
2	18/5/94	14,6	7,20	11,60		4	0,6	1,2	1,8	80	
3	20/6/94	19,8	6,70	13,53		14	0,1	1,9	2,0	107	
4	27/7/94		7,50			8	0,7	1,6	1,7	132	
5	18/8/94	22,1	8,26	5,88	65,0	14	0,7	1,9	2,2	137	
6	21/9/94	18,6	7,18	6,48	70,0	10	0,7	1,6	2,4	124	
7	4/10/94	17,9	7,08	6,86	71,5	12	0,7	1,4	2,0	118	
8	23/10/94	16,9	7,19	6,78	69,4	14	0,5	1,9	3,0	106	
9	7/11/94	14,5	6,89	8,30	81,8	11	0,6	1,6	1,6	90	
10	22/11/94	13,2	6,81	6,63	65,0	12	0,5	1,2	2,6	112	
11	13/12/94	12,7	7,03	6,59	62,2	6	0,4	1,2	2,2	108	
12	27/12/94	9,8	8,20	7,52	66,9	14	1,0	1,8	2,4	106	
13	24/1/95	9,5	7,13	7,94	69,7	10	0,7	1,0	2,2	80	
14	2/2/95	10,8	7,19	7,47	68,7	12	0,4	0,7	2,0	82	
15	22/2/95	11,2	7,06	7,71	70,2	7	0,6	1,1	2,4	88	
16	15/3/95	10,3	7,58	8,43	75,3	13	0,6	0,8	1,5	82	110
17	4/4/95	14,2	6,48	6,81	66,2	10	0,4	1,2	2,5	111	137
18	19/4/95	15,0	4,35	6,25	62,1	10	0,3	1,4	2,4	105	126
19	3/5/95	16,6	7,73	7,00	71,1	8	0,4	1,3	2,0	101	120
20	20/5/95	16,6	8,01	7,23	73,7	13	0,5	1,3	1,6	110	124
21	7/6/95	19,5	9,30	6,75	72,3	8	0,6	1,6	1,6	115	125
22	22/6/95	20,4	7,16	5,91	65,1	13	0,4	1,3	1,8	128	135
23	11/7/95	20,1	7,35	5,52	61,2	9	0,5	1,5	2,6	127	137
24	1/8/95	21,8	7,52	5,08	57,3	8	0,9	1,4	2,6	138	144
25	17/8/95	21,8	7,55	4,80	54,7	17	0,7	1,8	2,8	149	155
26	12/9/95	20,8	7,41	5,12	57,5	10	0,6	1,8	2,0	143	155
27	2/10/95	19,7	7,39	5,03	55,1	6	0,6	1,4	1,6	143	156
28	16/10/95	19,0	7,37	5,40	57,9	10	0,6	1,4	1,6	157	171
29	6/11/95	16,4	7,23	5,26	53,5	10	0,5	1,3	1,4	128	148
30	23/11/95	14,0	7,17	7,77	56,3	10	0,3	1,0	1,7	102	129
31	12/12/95	10,8	7,27	6,16	55,6	6	0,6	1,2	1,4	105	135
33	22/2/96	8,9	7,17	6,66	57,1	4	0,5	0,6	1,0	81	112
34	11/3/96	9,8	6,80	6,78	59,7	10	0,4	0,8	1,4	85	115
35	26/3/96	11,5	7,60	6,02	55,5	10	0,7	1,0	1,4	91	117
36	16/4/96	12,9	7,80	8,18	77,4	7	0,6	1,6	2,2	102	128



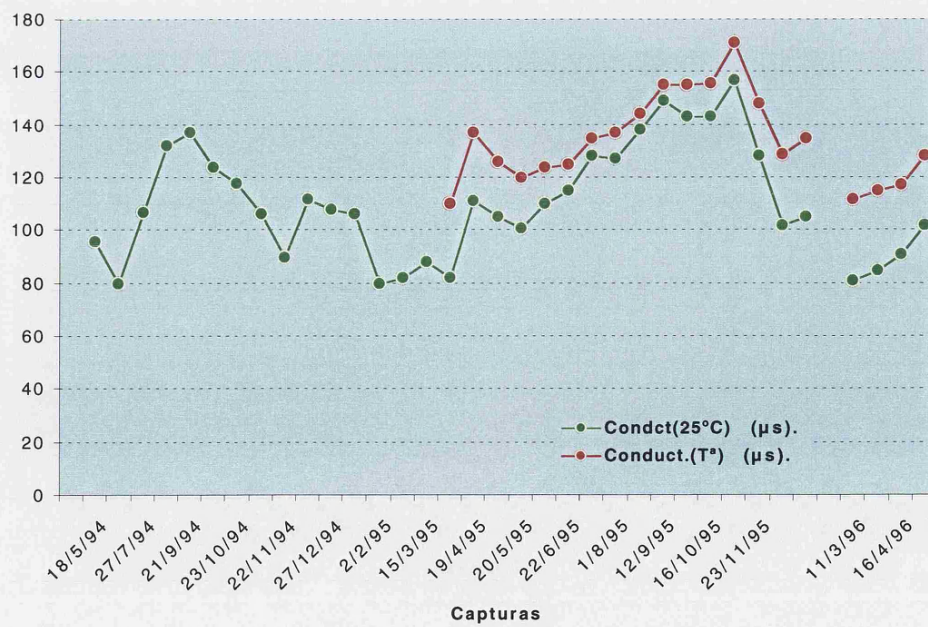
**APÉNDICE 3:** Representaciones gráficas de los valores de parámetros físico-químicos a lo largo del estudio. **3A)** Temperatura del agua ( $^{\circ}\text{C}$ ) y oxígeno disuelto ( $\text{mg/l}$ ). **3B)** Oxígeno disuelto (en porcentaje). **3C)** pH. **3D)** Conductividad ( $\mu\text{s}$ ) a  $25^{\circ}\text{C}$  y a la temperatura del agua. **3E)** Alcalinidad ( $\text{mmol/l}$ ), dureza de carbonatos ( $^{\circ}\text{dh}$ ) y dureza total ( $^{\circ}\text{dh}$ ). **3F)** Calcio ( $\text{mg/l}$ ).

**A****B**

C

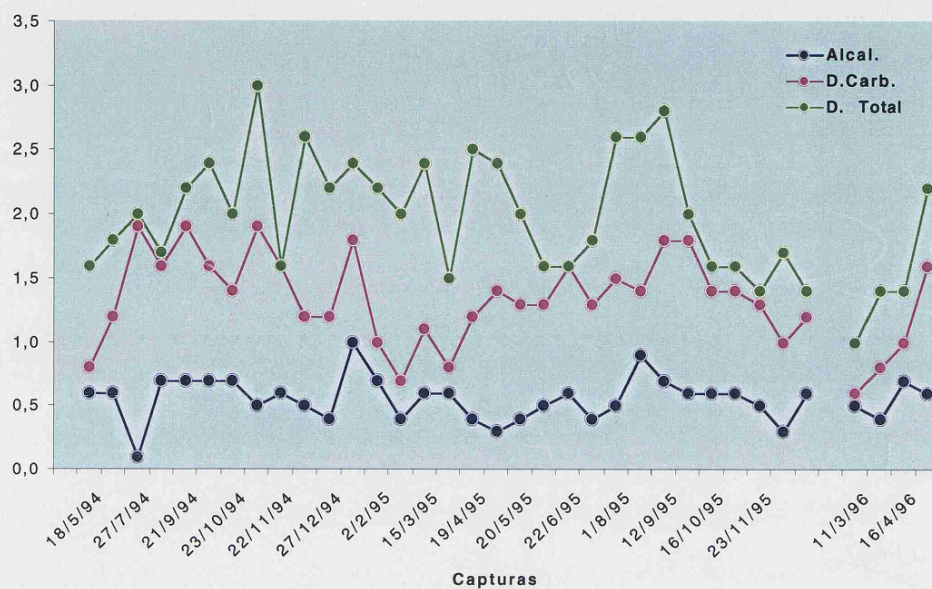


D





E



F

